

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmaceutické technologie

Formulace oligoesterových nanočástic

Diplomová práce

Hradec Králové 2007

Marcela Černá

Název práce: **Formulace oligoesterových nanočástic**

Autor: Marcela Černá

Abstrakt:

Tato práce se zabývá přípravou biodegradabilních oligoesterových nanočástic se zabudovaným léčivem. Cílem bylo rozšířit dosavadní poznatky o možnostech laboratorní přípravy nanočástic se zaměřením na charakteristické parametry, které souvisí s jejich farmakoterapeutickým působením a jejich stabilitou, tedy na jejich velikost a na hodnotu elektokinetického potenciálu. K přípravě byla zvolena metoda dispergace emulze typu olej ve vodě za použití dichlormethanu jako rozpouštědla. Pro přípravu nanočástic byly zvoleny čtyři typy emulgátorů v několika binárních směsích, čtyři typy polymerních nosičů s různým stupněm větvení a jako modelové léčivo byl použit terbinafin v různých koncentracích. Vzniklé nanočástice byly proměřovány pomocí zařízení Zetasizer (Malvern Instruments), které vyhodnocuje jejich velikost a elektokinetický potenciál. V experimentech bylo prokázáno, že lze navrženou a vyzkoušenou metodou při vhodné kombinaci emulgátorů připravit dostatečně stabilní nanočástice o velikosti pod 200 nm.

Title: **Formulation of oligoester nanoparticles**

Author: Marcela Černá

Abstract:

The aim of presented thesis is directed on the preparation method of biodegradable oligoester nanoparticles with embedded biologically active ingredient. Our interest was focused on the enlargement of knowledge concrete possibilities of nanoparticles preparation in the sense of parameters related to their pharmacokinetic activity and physical stability, such as particle size and electrokinetic potential. Nanoparticulate systems were prepared by solvent evaporation method (emulsion oil in water), dichloromethane was used as the solvent. Emulsifying agents of four types had been used in various binary mixtures. Four polymeric carriers differing in the branching degree were used. Terbinafine was selected as model drug substance. Size and electrokinetic potential of the prepared microparticles were measured using Zetasizer device (Malvern Instruments). From the presented results of experiments it is possible to conclude the possibility of preparation of stable nanoparticles with the diameter under 200 nm.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci zpracovala samostatně pod vedením
Doc. RNDr. Milana Dittricha, CSc. a s použitím uvedené literatury.

V Hradci Králové, dne 28. února 2007

Marcela Černá

Poděkování

Tímto děkuji vedoucímu práce Doc. RNDr. Milanu Dittrichovi, CSc. za jeho trvalý zájem o moji práci a cenné odborné připomínky.

Také děkuji konzultantu Mgr. Evě Valentové za vítané rady a opravy chyb, pomoc při měření dat, trpělivost a vstřícnost.

Obsah

1	TEORETICKÁ ČÁST	7
1.1	Nanotechnologie	7
1.1.1	Oblasti uplatnění nanotechnologie	8
1.1.2	Nanobiotechnologie	9
1.1.2.1	Nanobiosenzory	10
1.1.2.2	Nanomateriály	10
1.1.3	Nanotechnologie a farmacie	11
1.1.3.1	Vývoj nových léků	11
1.1.3.2	Způsoby podání léků	12
1.1.3.2.1	Cílená doprava léků do organismu	12
1.1.4	Uplatnění nanotechnologií	14
1.1.4.1	Současnost	14
1.1.4.2	Blízká budoucnost	15
1.1.4.3	Dlouhodobá perspektiva	15
1.2	Nanočástice	17
1.2.1	Příprava a výroba nanočástic	17
1.2.1.1	Polykondenzace a polymerace	17
1.2.1.1.1	Polykondenzace	17
1.2.1.1.2	Polymerace	18
1.2.1.2	Rozprašování	18
1.2.1.3	Extruze	18
1.2.1.4	Koacervace	18
1.2.1.5	Odpařování rozpouštědla	19
1.2.1.6	Molekulární inkluze	19
1.3	Měření stability systému nanočástic	20
1.3.1	Elektrické vlastnosti nanočástic	20
1.3.1.1	Elektrokinetický potenciál – zeta potenciál	20
1.3.1.2	Elektrokinetické jevy	21
1.3.1.2.1	Elektroforéza	21
1.3.2	Měření velikosti a zeta potenciálu nanočástic	22
1.3.2.1	Měření velikosti nanočástic	22
1.3.2.2	Měření zeta potenciálu nanočástic	23
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	25
2.1	Použité přístroje	25
2.2	Pomůcky	25
2.3	Chemikálie	25
2.3.1	Vlastnosti použitých polymerů	26
2.4	Příprava nanočástic	26

2.5	Výpočty	27
2.5.1	Příprava vodné fáze.....	27
2.5.2	Příprava organické fáze.....	28
2.6	Výsledky měření	29
2.6.1	Velikost částic a zeta potenciál polymeru M-18-M při teplotě 25°C ...	29
2.6.2	Velikost částic a zeta potenciál polymeru 3 D při teplotě 25°C	31
2.6.3	Velikost částic a zeta potenciál polymeru 3 M při teplotě 25°C.....	33
2.6.4	Velikost částic a zeta potenciál polymeru PDLLA při teplotě 25°C	35
2.6.5	Vliv typu použitého tenzidu na velikost částic a zeta potenciál.....	38
2.6.6	Vliv koncentrace terbinafinu na velikost částic a zeta potenciál	40
2.6.7	Vliv koncentrace PS na velikost částic a zeta potenciál	42
3	DISKUSE.....	44
3.1	Cíl práce	44
3.2	Téma a metodika práce	44
3.3	Nanočástice z nosiče větveného mannitolem v malé koncentraci	45
3.4	Nanočástice z nosiče větveného mannitolem ve vyšší koncentraci	46
3.5	Nanočástice z nosiče větveného dipentaerytritolem ve vyšší koncentraci	47
3.6	Nanočástice z lineární kyseliny poly(DL-mléčné)	48
3.7	Vliv změny koncentrace baze terbinafinu na nanočástice	49
3.8	Vliv tenzidu v kombinaci s lecitinem na nanočástice	49
3.9	Vliv podílu tenzidů v kombinovaném emulgátoru	50
4	ZÁVĚRY	51
PŘÍLOHA A – NAMĚŘENÁ DATA POLYMERU M-18-M PŘI TEPLITĚ 25°C.....		52
PŘÍLOHA B – NAMĚŘENÁ DATA POLYMERU 3 D PŘI TEPLITĚ 25°C		54
PŘÍLOHA C – NAMĚŘENÁ DATA POLYMERU 3 M PŘI TEPLITĚ 25°C		56
PŘÍLOHA D – NAMĚŘENÁ DATA POLYMERU PDLLA PŘI TEPLITĚ 25°C.....		58
PŘÍLOHA E – SEZNAM OBRÁZKŮ		61

PŘÍLOHA F – SEZNAM TABULEK	62
PŘÍLOHA G – SEZNAM GRAFŮ	63
LITERATURA.....	64

Úvod

Nanočástice začínají hrát zásadní roli ve farmacii a medicíně a to zejména při aplikaci léčiv. Používají se jako nosiče léčivé látky, které umožňují změnou vlastností modifikovat cíl transportu a transportní mechanismy.

Tato práce se věnuje přípravě nanočástic metodou odpařování rozpouštědla. K přípravě jsou použity v různých koncentracích čtyři typy polymerů, čtyři typy tenzidů a léčivo. Jako rozpouštědlo je použit dichlormethan a to na základě výsledků předchozí experimentální práce na katedře farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty University Karlovy v Hradci Králové.

Cílem této práce je zjistit velikost částic a zeta potenciál jednotlivých polymerů v závislosti na změně složení emulze.

1 Teoretická část

1.1 Nanotechnologie

Nanotechnologie je nová vědní oblast soustřeďující klasické vědecké obory jako jsou fyzika, kvantová mechanika, chemie, biochemie, elektronika atd. při vývoji materiálů, zařízení a funkčních systémů v rozměrech nanometrů.

Začala se vyvíjet v druhé polovině 20. století. Výzkumné práce se tehdy začaly zabývat prací s jednotlivými atomy a molekulami a chováním biologických entit o rozměrech na úrovni molekul.

V osmdesátých letech se postupně rozvíjela zkoumání možnosti syntézy a vlastností částic, krystalů, povrchů atd. o rozměrech řádově v nanometrech. Průlomovou událostí bylo vynalezení nových přístrojů, které umožnily pozorování, ale i manipulaci s jednotlivými částicemi. Možnosti využití nanočástic si začali uvědomovat nejen technologové, ale i biologové, a tak začal výzkum možností aplikace těchto částic v medicíně, farmacii a biotechnologiích.

V současné době existuje mnoho definic nanotechnologie. Jednou z nich je definice používaná v americkém programu ‘Národní nanotechnologická iniciativa (NNI)’, ve znění z března 2004: *„Nanotechnologie je výzkum a technologický vývoj na atomové, molekulární nebo makromolekulární úrovni, v rozměrové škále přibližně 1—100 nm. Je to též vytváření a používání struktur, zařízení a systémů, které mají v důsledku svých malých nebo intermediárních rozměrů nové vlastnosti a funkce. Je to rovněž dovednost manipulovat s objekty na atomové úrovni.“* [6].

Další jsou definice zformulované v rámci zpracovávání studie ‘The Nanotechnology Study’ v britské The Royal Society v roce 2003: *„Nanověda je studium hmoty na atomové a molekulární úrovni (obvykle od 0,1 do 100 nm), kde se vlastnosti výrazně liší od vlastností při větších rozměrech. Nanotechnologie je aplikací těchto znalostí při vytváření užitečných materiálů, struktur a zařízení.“* [7].

1.1.1 Oblasti uplatnění nanotechnologie

Nanotechnologie využívá širokou škálu různých vědních disciplín a rozvíjí se v řadě oblastí:

Nanomateriály - tato oblast je zaměřena na zkoumání a vývoj nových druhů materiálových systémů, jejichž podstatné vlastnosti vyplývají z rozměrů jejich složek v nanometrech. Např. nanopráškové materiály, nanočástice, kompozitní materiály obsahující nanočástice, nanostrukturní kovy a slitiny, nanokeramika, polymerní nanokompozity, polymerní nanomateriály atd.

Nanochemie – zabývá se vytvářením a modifikací chemických systémů, jejichž funkčnost pramení z jejich nanorozměrů. Supramolekulární funkční systémy představují materiálový základ nových látek.

Nanoelektronika - zkoumá různé strategie využití elektronických vlastností nanostruktur v celé řadě aplikací budoucích informačních technologií.

Nanooptika - pokládá základy optických vysokorychlostních komunikačních technologií, nových zdrojů laserového světla a optických systémů pro široké použití.

Nanovýroba - zkoumá a vyvíjí metody technologie výroby struktur, vrstev a systémů v nanorozměrech.

Nanobiotechnologie - používá nanotechnologické postupy při zkoumání biologických systémů a využívá poznatků o biosystémech k vytváření nových přístrojů a nanosystémů. Její hlavní využití nacházíme v medicíně a farmacii. Např. zapouzdřování a cílená doprava léků, příprava biokompatibilních materiálů, analýza DNA atd.

Nanoanalytika - zabezpečuje analytické metody a nástroje pro porozumění základních jevů a pro charakterizování výrobků.

1.1.2 Nanobiotechnologie

Jak bylo řečeno, nanotechnologie nabízí biologii nové nástroje zkoumání a biologie nabízí nanotechnologii přístup k novým druhům funkčních nanosystémů. Porozumění biologickým procesům na úrovni nanometrů je silná hnací síla pro rozvoj nanotechnologií, protože poznání biologických mechanismů, funkcí a struktur může posloužit jako výchozí bod při vývoji nových syntetických materiálů a nových technologií. Není však cílem nanotechnologie tyto biologické struktury napodobovat, ale využít získané znalosti k novým řešením.

Vzhledem k definici nanočástic spadají do této kategorie nejrozumnější biologické entity. Například viry s rozměry od 10 do 200 nm, které patří k horní hranici této oblasti, dále typické stavební proteiny s velikostí od 4 do 50 nm, ATP syntáza, jejíž průměr je cca 10 nm, molekula DNA, která je široká asi 2,5 nm či molekula vody, která patří s průměrem přibližně 1 nm naopak k dolní hranici nanooblasti. Těsně pod spodním limitem velikosti nanočástic nalezneme i stavební bloky proteinů – aminokyseliny - jejichž velikost se pohybuje kolem 0,6 nm.

Příroda umí vytvářet materiály a molekulární stroje výjimečných vlastností spontánním sestavováním atomů a molekul způsobem, který nazýváme „zdola – nahoru“ (bottom – up). Z malého počtu základních stavebních kamenů je schopna sestavit a organizovat velké množství rozdílných struktur, které jsou vysoce přesné, schopné se opravovat, samostatně existovat nebo se vyvíjet. Tyto struktury mají tedy typické hierarchické uspořádání, které začíná monomerními molekulami (např. aminokyseliny, lipidy), ty vytvářejí polymery (např. DNA, proteiny a polysacharidy), poté vyšší celky (např. membrány) a konečně buňky, orgány, organismy. Biologické struktury jsou svým hierarchickým uspořádáním vzorem pro propojování umělých nanostruktur do rozměrnějších celků.

Nanotechnologie nabízejí nová řešení pro transformaci biosystémů, nové přístroje, nové analytické postupy a nové materiály zvláštních vlastností, čímž poskytují širokou technologickou základnu pro využití v mnoha oblastech: v průmyslovém biozpracování, v molekulární medicíně – nanomedicíně (odhalování a léčba chorob, nahrazování částí lidského těla, regenerativní medicína, nanometrická chirurgie), v biofarmacii při vývoji nových léků (syntéza a cílená dodávka léků do organismu),

při zkoumání vlivu nanostruktur na zdraví a životní prostředí (vliv znečištění okolí nanočásticemi, ekotoxikologie), při zkvalitnění zemědělských systémů (bioseparace, snímače signálu, rychlé odebírání vzorků a péče o zdraví chovných zvířat), v potravinářství (při zvyšování výkonů v zemědělství, u nových potravinářských výrobků, při konzervaci potravin, v obalové technice) nebo v lesnictví.

1.1.2.1 Nanobiosenzory

Senzory jsou analytická čidla sledující určitou fyzikální veličinu. V případě, že k nebiologické části (pevná elektroda) je přidána biologická část, stane se ze senzoru biosenzor. Jako biologická část se nejčastěji používají buňky, mikroorganismy, enzymy, proteiny, DNA nebo protilátky a jejím úkolem je specificky detekovat hledanou látku. Další částí biosenzoru je převodník, který přeměňuje biochemický signál na signál elektrický nebo optický, úměrný koncentraci detekované látky. Mezi biologickým prvkem a převodníkem nalezneme rozhraní spojující obě části (např. polymerový tenký film, chemicky modifikovaný povrch). Biosenzory můžeme využít např. k měření nutriční hodnoty, čerstvosti a bezpečnosti potravin, k měření a lokalizaci nečistot v životním prostředí, k detekci a kvantifikaci výbušných látek, toxinů či biologických zbraní. Biosenzory jsou v současnosti převážně ve vývoji. Nejsou dosud vyřešeny všechny otázky jejich výroby (citlivost senzorů, reprodukovatelnost vlastností biologické části). Intenzivní výzkum se v současné době zaměřuje na nanobiosenzory. Ty by se mohly stát nástroji schopnými vyšetřovat důležité biologické procesy na buněčné úrovni in vivo. Existují tři typy nanosenzorů, u kterých se předpokládá jejich využití v lékařství: senzory s nosníkovým uspořádáním (konstrukce čichového senzoru – umělý nos), senzory na bázi nanotubic (monitoring glukózy, rozpoznání antigenů), senzory na bázi nanodrátů (analýza vazby malých molekul k proteinům, detekce virů a DNA).

1.1.2.2 Nanomateriály

Některé nanomateriály se již dnes uplatňují v oblasti medicíny, u jiných se jejich aplikace očekává a to nejen v medicíně, ale i v kosmetice a potravinářství. Nanomateriály můžeme charakterizovat podle chemického složení, tvaru, rozměrů, funkčních vlastností apod. Z dosud nejprozkoumanějších jde o nanočástice kovů,

oxidů kovů nebo polymerů, uhlíkové nanotrubičky, nanoporézní materiály, nanoemulze a jiné polymerní struktury.

Jedna z významných oblastí využití nanomateriálů je biomolekulární diagnostika. Používají se hlavně nanočástice zlata (detekce nukleových kyselin, detekce genetických změn a mutací), dále kvantové tečky, což jsou v podstatě fluofory z polovodičových materiálů (CdSe, CdTe, ZnS), které se využívají jako bioznačky, nebo nanočástice SiO₂. Ty jsou dnes používány v kosmetických přípravcích a zubních pastách, další možné aplikace se jeví ve výrobě nanopouzder.

1.1.3 Nanotechnologie a farmacie

Rozvoj farmacie v poslední době stále více ovlivňuje biotechnologie. To se projevuje i ve farmaceutickém průmyslu, který v rozsáhlé míře podporuje výzkum nových léků a způsobů léčení. Je stále obtížnější a dražší vyvinout novou účinnou látku. I když investice do výzkumu léků stále rostou, počet nových léků povolených k používání stále klesá. Výzkum a vývoj nových farmak a diagnostických systémů ovlivňují hlavně čtyři oblasti: globální problémy (pandemie, AIDS), nové poznatky vědy, vliv trhu (konkurence výrobců, podíl na trhu) a vliv nastupujících směrů a technologií (molekulární biologie, farmakogenomika, proteomika, nanotechnologie,...)

1.1.3.1 Vývoj nových léků

V dnešní době téměř všechny farmaceutické společnosti používají podobné technologické procesy při objevování nových léčiv. Stále je možné nalézt nový účinný lék náhodou nebo prošetřováním a tříděním přírodních látek (screeningem), ale převážně se dnes uplatňují metody kombinatorní chemie. V poslední době se rýsují i možnosti uplatnění nanotechnologií. Aplikace těchto technologií je zatím na počátku, ale výzkumné práce probíhají velmi intenzivně a je zřejmé, že přinesou nová řešení.

Již dnes se využívají při aplikaci moderních zobrazovacích a analytických metod vyvinutých pro zkoumání v nanometrických rozměrech, pro zlepšení identifikace a prověřování targetů nových léků, ke snížení doby identifikace nových léků, snížení

objemu drahých činidel při provádění screeningu potenciálních léků a ke zlepšení zviditelňování interakce léků s tkáněmi.

1.1.3.2 Způsoby podání léků

Způsob podání léku může ovlivnit jeho účinnost. Na druhou stranu způsob, jakým je lék do organismu dodán, závisí na druhu a důležitých vlastnostech léku (rozpustnost, lipofilita) a jeho schopnosti dosáhnout místa působení.

Nejdůležitějším způsobem stále zůstává *perorální podání*. Při tomto způsobu podání závisí účinnost léčiva na jeho odolnosti vůči gastrointestinálnímu traktu (kyselina chlorovodíková v žaludku, enzymy v tenkém střevě, v játrech, bakterie v tlustém střevě). Je však pohodlný a levný a to pro pacienta i výrobce.

Další možností je *parenterální způsob* podání (tj. intravenózní, intramuskulární, subkutánní), který je velmi důležitý. V současnosti můžeme intravenózně podávat pouze lipozomální systémy. Do nanočásticových systémů se tak vkládají velké naděje. Předpokládá se jejich využití při podání do míst, kam je obtížný přístup: oční, nosní, intraartikulární či mozkomíšní dutiny a také při podání nosními a sublingválními cestami, přičemž se vyhneme prvním účinkům metabolismu.

Podávání léků přes plicní systém se provádí prostřednictvím aerosolů, prášků a roztoků, které mohou obsahovat nanostruktury jako jsou lipozomy, micely, nanočástice a dendrimery. Tento mechanismus umožňuje dodávku léčiva do cíleného místa při léčbě respiračních chorob a zvažuje se i systémové podávání. Slibné a efektivní využití se jeví i v oblasti genové terapie (v léčbě cystické fibrózy).

Hlavní důvody použití nanorozměrů při podávání léků jsou: co nejmenší zásah do těla pacienta, cílená terapie určitých druhů tkání, zvýšení účinnosti léků a snížení dávek a vedlejších účinků.

1.1.3.2.1 Cílená doprava léků do organismu

Velmi pomalý pokrok v léčbě těžkých nemocí způsobil, že byl přijat nový postup, který se snaží o cílenou dodávku léčiv do organismu a jeho uvolňování. Cílem je zlepšit kontrolu nad farmakokinetikou a farmakodynamikou léčiv, nad jejich

nespecifickou toxicitou, imunitními reakcemi, rozpoznáváním biologických systémů a zároveň zvýšit účinnost léčiva.

Mechanismy cílené dopravy léčiv mohou být pasivní nebo aktivní. Příkladem pasivního zacílení je akumulace léčiva v postižené tkáni v důsledku rozdílného krevního zásobení zdravé a nemocné tkáně. Aktivního zacílení můžeme dosáhnout chemickou úpravou povrchu nosiče léčiva, což umožňuje, že se selektivně váže na postižené buňky. Také řízené uvolňování léků má pozitivní vliv na úspěch léčby. Využívá se buď plynulého uvolňování léčiva (difúzní, prodloužené) anebo periodického uvolňování, které lépe vystihuje biologické procesy v lidském těle (např. vyplavování insulinu).

Nanotechnologie nabízejí nová řešení dopravy léků. Jsou jimi nanomateriály, které můžeme využít jako nosiče léčiv (nanoprášky, nanopouzdra, nanotrubice, dendrimery, kvantové tečky, ...) a nanosystémy (pumpy a ventily, soubory nanojehel, NEMS).

Nosiče léčiv

Účinné nosiče léčiv musí mít schopnost dopravit optimální množství léku, umožnit jeho uvolňování a musí vykazovat nízkou toxicitu. V současnosti se zkoumají koloidní systémy z materiálů jako jsou dendrimery, tekuté krystaly, nanočástice, lipozomy a micely. Z anorganických materiálů nanočástice zlata či nanočástice SiO_2 .

Dendrimery - jsou molekuly složené z jádra a vnějších chemických skupin. Modifikací těchto skupin ovlivňujeme jejich vazebné schopnosti popřípadě jejich stabilitu.

Tekuté krystaly – kombinují vlastnosti kapalné i pevné fáze a umožňují střídání polární a nepolární vrstvy, což umožňuje zabudování vodného roztoku léčiva.

Nanočástice – mají schopnost absorbovat a/nebo opouzdřit lék, čímž jej chrání před chemickým a enzymatickým znehodnocením. Často jsou vyráběny z biokompatibilních a biodegradabilních syntetických polymerů, čímž vyvstává problém fagocytózy. Současný výzkum je zaměřen na optimalizaci povrchu polymerních nanočástic (předejití fagocytóze) a vývoj polymerních nanočástic pro hydrofilní sloučeniny a pro orální použití.

Nanosystémy

Kapalné preparáty – vytváří tuhá (polotuhá) podkožní depa, která umožňují, aby byla léčiva dodávána lokálně nebo systémově po dlouhou dobu. Jejich výhodou je menší invazivita a bolestivost ve srovnání s implantáty.

Nanoelektromechanické systémy (NEMS) – jsou to mikročipy s řízeným uvolňováním látek, které mají schopnost skladovat a na pokyn uvolňovat potřebné množství léčiva a to v jakékoli formě (kapalná, pevná, gel).

Dále se nabízí možnosti využití inteligentních systémů, syntézy žádané molekuly in vivo na objednávku, nanostrukturovaných inteligentních povrchů, atd.

1.1.4 Uplatnění nanotechnologií

Nanotechnologie patří mezi tzv. nastupující technologie. Jejich intenzivní rozvoj nastal až na přelomu tohoto tisíciletí, avšak poznatky a výsledky v této oblasti za posledních 20 let dávají tušit, jaké bude jejich uplatnění. V některých oblastech jsou již nové poznatky realizovány, v jiných jsou ve fázi výzkumu a v dalších se teprve očekávají (obr. 1).

1.1.4.1 Současnost

V současnosti se v praxi využívají převážně nanomateriály. Jako první se objevily materiály ve formě prášků, například částice TiO_2 a ZrO_2 v kosmetických obličejových či opalovacích krémech nebo částice Fe_2O_3 jako základní materiál do líčidel. Na trhu se objevily i obkládací materiály se speciálním povrchem, na kterém neulpívá voda ani špína. Také informační technologie využívají těchto materiálů, konkrétně v tranzistorech a čtecích hlavách harddisků.

V oblasti nanomedicíny se využívají lipozomální struktury a nanostruktury ke zlepšení distribuce či k zapouzdření terapeutických látek (terapie rakoviny). Při analýze moče, krve a jiných tělních tekutin se pro zlepšení rozlišitelnosti a urychlení separace používají magnetické nanočástice. V praxi již byly aplikovány i fluorescentní nanočástice a to v zařízeních a systémech pro analýzu infekčních a genetických chorob.

Nanotechnologie zasáhly i do oblasti sportu a odívání. Vyrábí se nemačkové a nešpinící se tkaniny s přísadou nanočástic, tenisové rakety, které mají rámy z uhlíkatých nanotrubic dodávajících pevnost nebo tenisové míčky s vnitřní vrstvou z nanomateriálů zvyšujících jejich odolnost.

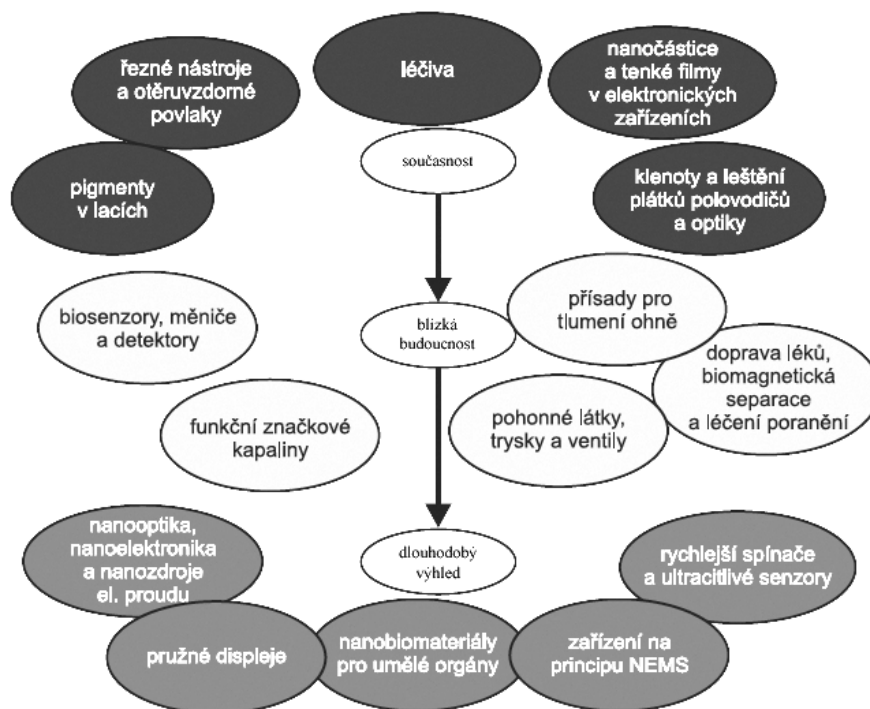
1.1.4.2 Blízká budoucnost

V horizontu několika let se předpokládá realizace řady nových výrobků z oblasti nanotechnologií. Ve stádiu zkoušení jsou tzv. kvantové tečky, které mají sloužit při analýze biologických systémů (sledování konkrétních molekul účastnících se chemických reakcí) a při testování DNA a protilátek. Další využití se předpokládá v povlékání plastů nanoprášky, což zvýší jejich odolnost vůči otěru a korozi a ve výrobě keramických nanomateriálů pro vodní trysky, lasery, pláště zbraňových systémů. Je prováděn výzkum v oblasti optických komunikačních sítí, biosenzorů, textilních materiálů nebo životního prostředí a energetiky (biodegradabilní chemické látky pro pěstivatelství, látky na ochranu proti hmyzu, zapouzdřování nečistot biologických odpadů).

1.1.4.3 Dlouhodobá perspektiva

Očekává se, že oblast využití nanotechnologií se ještě rozšíří a produkty se více zdokonalí. Hlavní využití se předpokládá v oblasti informačních a telekomunikačních technologií. Velmi mnoho si vědci slibují i od tzv. extrémní nanotechnologie. Ta zahrnuje atomovou a molekulovou manipulaci a samoorganizování či samosestavování hmoty. Výzkum v této oblasti je momentálně v raném stádiu. Velkou nadějí pro oblast dodávek léků do organismu jsou molekulárně tištěné polymery. Ty by mohly umožnit dodávku léků s naprogramovanou rychlostí, dodávku, jejíž aktivace bude řízena biologickými, fyzikálními a biochemickými procesy nebo dodávku léků regulovanou zpětnou vazbou.

Nanotechnologie ovlivňuje mnoho oblastí lidské činnosti a její dopady nemusí být vždy jen pozitivní. Proto je velmi důležité přihlížet nejen k vědeckým, ale také k etickým a sociálním důsledkům při zavádění nových poznatků do praxe.



Obr. 1. Současné aplikace nanotechnologie a předpokládaný vývoj

1.2 Nanočástice

Nanočástice představují novou lékovou formu, která umožňuje stabilizaci léčivých látek a zvyšuje jejich biodostupnost. Uplatňují se zejména u léčiv s řízenou liberací a při cílené distribuci léčiv. Jde o koloidní systémy velikosti částic 1 – 100nm a jsou složeny z vnitřní a vnější fáze. Jádru (vnitřní část) tvoří aktivní látka (léčivá látka, antigen, diagnostická látka) a může být tekuté nebo kapalné. Stěna (vnější část) je tvořena nosičem aktivní látky, nejčastěji polymerem nebo kopolymerem, popřípadě dalšími látkami (plastifikátory, tenzidy).

Polymery používané při výrobě nanočástic musí splňovat požadavky biodegradability a biokompatibility. Z přírodních polymerů se používají například kolagen, želatina, albumin zejména ke kontrole uvolňování léčiv. Jejich hlavní nevýhodou je vysoký alergický potenciál. Ze syntetických polymerů se používají převážně polyestery, z nichž nejvýznamnější roli hrají polymery a kopolymery kyseliny polymléčné a kyseliny polyglykolové.

1.2.1 Příprava a výroba nanočástic

Pro přípravu a výrobu nanočástic se používá termín mikroenkapsulace. Tento termín zahrnuje též přípravu mikrosfér, mikrokapsul a lipozomů.

1.2.1.1 Polykondenzace a polymerace

Tyto výrobní postupy na rozdíl od většiny ostatních vycházejí z monomerů. Využívají se materiály, jejichž fyziologické vlastnosti již byly prověřeny (materiály pro kontaktní čočky, absorbovatelné šicí materiály).

1.2.1.1.1 Polykondenzace

Je to reakce dvou různých monomerů v nemísitelných kapalných fázích. První fází je vodný roztok monomeru A (jádro budoucího systému), druhou fází je emulze monomeru B (stěna budoucího systému). Výsledným produktem je polymer AB tvořící se na mezipovrchu obou nemísitelných kapalin a vedlejší produkt (nizkomolekulární látka).

1.2.1.1.2 Polymerace

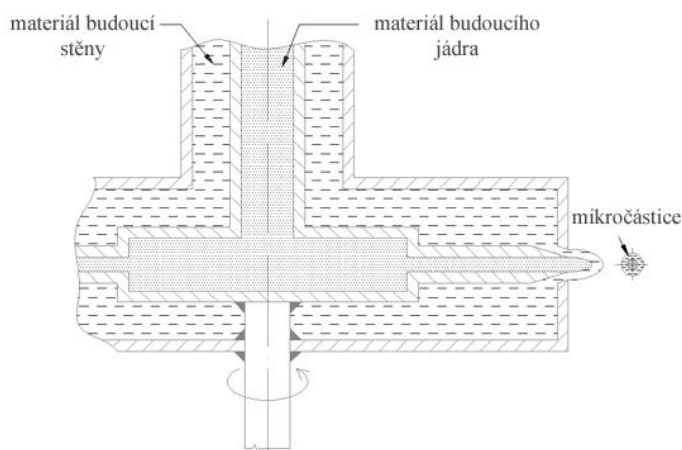
Polymerační reakce probíhají obdobně. Při objemové polymeraci se reakce vyvolává zahřátím, a proto lze tento proces využít jen pro termostabilní léčiva. Při využití suspenzní nebo emulzní polymerace toto omezení neplatí.

1.2.1.2 Rozprašování

Principem této metody je rozptylování roztoku léčiva a roztoku polymeru, popřípadě taveniny, do vyhřívané nebo chlazené komory rozprašovací sušárny.

1.2.1.3 Extruze

Při extruzi dochází k přímému obalení jádra mikročástice materiálem tvořícím stěnu působením gravitační, odstředivé nebo mechanické síly. Tento proces se provádí v extruderech (obr. 2). Touto metodou lze připravit částice s kapalným jádrem, pelety i tvarované tuhé částice.

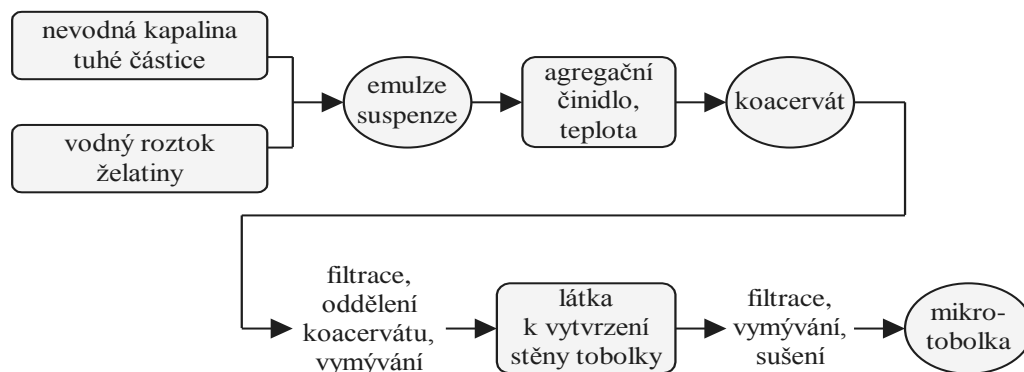


Obr. 2. Přístroj pro odstředivou extruzi

1.2.1.4 Koacervace

Koacervace je nejstarší metodou tvorby mikročástic. Při fázové separaci, která se vyvolává změnou koncentrace reakční směsi, změnou pH, změnou teploty nebo přidáním cizího rozpouštědla, dochází ke vzniku koacervátu a následnou filtrací, vymýváním a sušením vznikají mikrotobolky (obr. 3). Typem koacervačního agens

můžeme ovlivňovat vlastnosti stěny tobolek, a tím i liberaci léčiva. Proces koacervace probíhá vzhledem k hydrofilitě léčiva ve vodném nebo nevodném prostředí procesem jednoduché nebo složené koacervace.



Obr. 3. Příprava tobolek jednoduchou koacervací

1.2.1.5 Odpařování rozpouštědla

Při této metodě dochází ke vzniku mikročástic odpařením rozpouštědla ve většině případů z emulze typu olej ve vodě. Emulze vzniká smísením vodné a organické fáze. Vodnou fází obvykle tvoří roztok hydrofilního koloidu (želatina, lecitin, celulóza) a/nebo tenzidu (polysorbáty, poloxamery, ...). Organická část je tvořena směsí léčivé látky, polymeru a organického rozpouštědla. Použitá rozpouštědla musí být omezeně mísitelná s vodou a jejich toxicita by měla být co nejnižší. Nejčastěji se používá dichlormethan, trichlormethan, ethylacetát. Za vhodných podmínek (teplota, tlak) přechází rozpouštědlo postupně do vodné fáze, odpařuje se do okolí a z organické fáze se tvoří pevné mikročástice.

1.2.1.6 Molekulární inkluze

K přípravě mikročástic molekulární inkluzí se využívá převážně β -cyklodextrinů. Cyklodextriny jsou cyklické struktury řetězce amylosy obsahující sedm glukosových jednotek. Z roztoku β -cyklodextrinu s léčivou látkou vlivem změny podmínek (teplota) vzniká krystal, v jehož dutině je uzavřena léčivá látka.

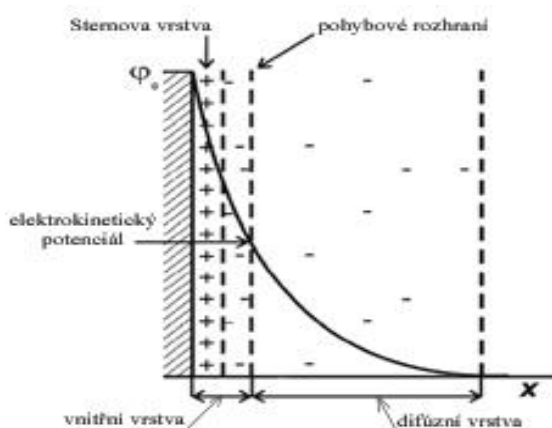
1.3 Měření stability systému nanočástic

1.3.1 Elektrické vlastnosti nanočástic

Elektrické vlastnosti nanočástic mají vliv na stabilitu koloidních soustav a na chování částic v elektrickém poli. Z hlediska potřeb tohoto experimentu je důležitou vlastností elektrokinetický potenciál, protože na něm přímo závisí stabilita koloidního systému.

1.3.1.1 Elektrokinetický potenciál – zeta potenciál

Na povrchu koloidních částic vzniká elektrický náboj, který vytváří kolem částice elektrické pole. Vliv tohoto pole způsobuje v těsné blízkosti částice vznik elektrické dvojvrstvy, což je útvar složený ze dvou vrstev opačně nabitých iontů. Dle Sternova modelu uspořádání (obr. 4) je elektrická dvojvrstva tvořena vnitřní kompaktní vrstvou a difúzní vrstvou. K vnitřní vrstvě iontů, jsou ionty opačného znaménka přitahovány elektrostatickými a adsorpčními silami. Ionty vázané převážně adsorpčními silami (Sternova vrstva) a ionty vázané na povrch částice tvoří zmiňovanou vnitřní kompaktní vrstvu. Difúzní vrstva se při pohybu částice vůči nepohyblivému disperznímu prostředí na rozdíl od kompaktní vrstvy nepohybuje. Rozhraní oddělující pohyblivou a nepohyblivou část elektrické dvojvrstvy se nazývá pohybové rozhraní. Potenciál existující na pohybovém rozhraní je odpovědný za interakci částice s vnějším elektrickým polem (elektrokinetické jevy) a nazývá se elektrokinetický potenciál neboli ζ - potenciál.



Obr. 4. Schéma Sternova modelu uspořádání elektrické dvojvrstvy

1.3.1.2 Elektrokinetické jevy

Při působení elektrického pole vykazují nanočástice v důsledku existence elektrického náboje na povrchu určité pohyby, které jsou souhrnně označovány jako elektrokinetické jevy. Mezi ně patří elektroforéza, elektroosmóza, sedimentační potenciál a potenciál proudění. V případě elektroforézy a elektroosmózy dochází k pohybu částic vlivem vnějšího elektrického pole, v případě sedimentačního potenciálu a potenciálu proudění dochází k mechanickému pohybu, který vyvolává elektrické pole.

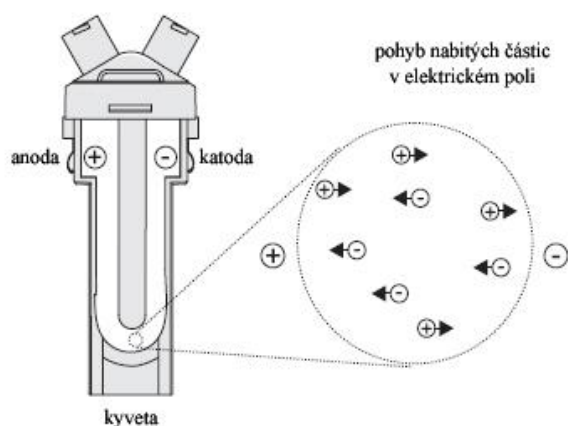
1.3.1.2.1 Elektroforéza

Při působení elektrického pole v elektrolytu se elektricky nabitě částice pohybují směrem k elektrodě s opačným nábojem (obr. 5). Na částici působí síla elektrického pole, proti níž působí síla tření. Při rovnováze těchto sil se částice pohybuje konstantní rychlostí. Rychlost částice závisí na síle elektrického pole, dielektrické konstantě elektrolytu, viskozitě elektrolytu a zeta potenciálu. Rychlost částice v elektrickém poli se nazývá elektroforetická mobilita. Na základě znalosti elektroforetické mobility můžeme pomocí *Henryho rovnice* (rovnice 1) vypočítat hodnotu zeta potenciálu.

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta(Ka)}{3\eta} \quad (1)$$

U_E elektroforetická mobilita
 ε dielektrická konstanta
 ζ zeta potenciál
 η viskozita
 $f(K_a)$ Henryho funkce

Dle Smoluchowskiho aproximace se pro vodné roztoky elektrolytů používá $f(K_a) = 1.5$. U nevodných roztoků elektrolytů se používá hodnota $f(K_a) = 1$ (Huckelova aproximace).



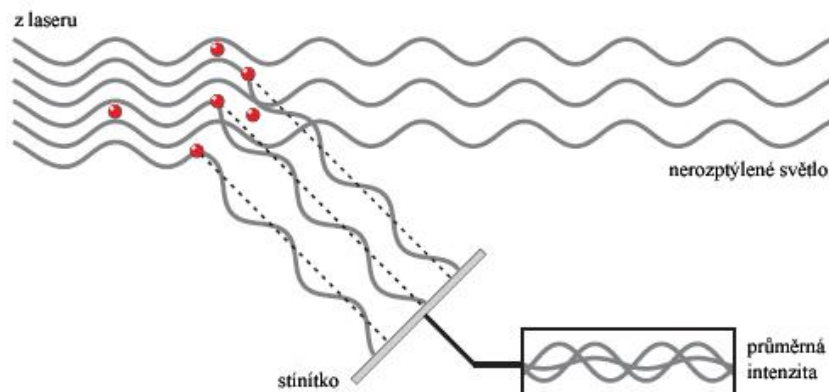
Obr. 5. Elektroforéza

1.3.2 Měření velikosti a zeta potenciálu nanočástic

Měření velikosti a zeta potenciálu nanočástic je možné provádět na přístrojích série Zetasizer Nano. Pro měření velikosti částic se využívá dynamický rozptyl světla (Dynamic Light Scattering – DLS), pomocí kterého se měří Brownův pohyb, jenž se převádí na velikost částic. Při měření velikosti zeta potenciálu využíváme dynamický rozptyl světla k měření elektroforetické mobility.

1.3.2.1 Měření velikosti nanočástic

Je-li stacionární částice osvětlena intenzivním zdrojem světla (laserový paprsek), rozptyluje světlo všemi směry. Při umístění stínítka v blízkosti osvětlované částice vznikne na stínítku vlivem dynamického rozptylu světla (obr. 6) světlý bod. Při aplikaci tohoto principu na velké množství částic, vzniknou na stínítku oblasti světlých a tmavých míst. Světlé oblasti vznikají v místech, kde dopadá rozptýlené světlo na stínítko ve stejné fázi, a tím dochází ke konstruktivní interferenci. Tmavé oblasti jsou naopak v místech, kam dopadá rozptýlené světlo v opačné fázi, a tím se navzájem vruší.



Obr. 6. Dynamický rozptyl světla (DLS)

Jsou-li částice umístěny v roztoku, neustále se vlivem Brownova pohybu pohybují. Brownův pohyb je způsobený náhodnými srážkami částice a molekul okolního roztoku. Pro potřeby měření je důležitá skutečnost, že malé částice se pohybují rychle, zatímco velké pomalu. Vzájemný vztah mezi velikostí částice a její rychlostí způsobenou Brownovým pohybem definuje *Einstein – Stokesův zákon* (rovnice 2).

Jak se částice pohybují, sčítání konstruktivních a destruktivních fází rozptýleného světla způsobí fluktuaci intenzity a polohy světlých a tmavých oblastí na stínítku. Přístroje série Zetasizer Nano měří hodnotu intenzity fluktuace a využívají ji k výpočtu velikosti částic.

$$D = b + \frac{kT}{6\eta\pi} \left(\frac{1}{r} \right) \quad (2)$$

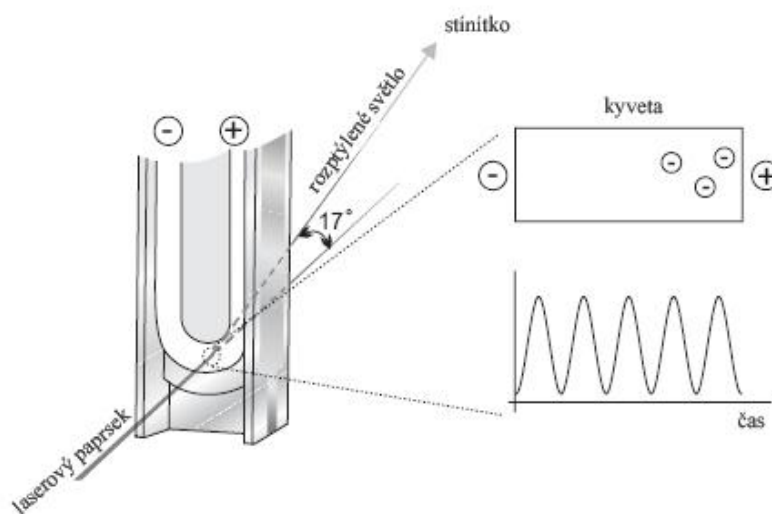
D..... difúzní koeficient molekul
b konstanta
k Boltzmannova konstanta
T..... termodynamická teplota
η..... viskozita
π Ludolfovo číslo
r poloměr difúzní molekuly

1.3.2.2 Měření zeta potenciálu nanočástic

K měření zeta potenciálu nanočástic se v přístrojích série Zetasizer Nano využívá Dopplerova laserového rychloměru (Laser Doppler Velocimetry – LDV). Funkce Dopplerova laserového rychloměru spočívá v soustředění odraženého světla od pohybujících se částic v kyvetě přijímací optikou (obr. 7). Intenzita světla odraženého pod úhlem 17° se porovnává s intenzitou světla referenční žárovky. To

způsobuje výslednou fluktuaci intenzity signálu, která se přepočítává na rychlost částic. Pro extrakci charakteristické frekvence rozptýleného světla se používá digitální procesor signálu. K rozpořádání částic v elektrolytu se využívá principu elektroforézy.

Hodnoty zeta potenciálu získáme přímo z rychlosti částic v elektrolytu (elektroforetická mobilita) výpočtem z Henryho rovnice (viz. rovnice 1).



Obr. 7. Laser Doppler Velocimetry

2 Experimentální část

2.1 Použité přístroje

Analytické váhy Kern ABS, max 220 g, d=0,1 g

Váhy Kern 440–33N, max 200 g, d=0,01 g

Váhy Kern 440–47, max 1200 g, d=0,1 g

Ultrazvuk Sonorex super 10P Bandelin

Homogenizátor Diax 900 Heidolph, max 8000 – 26000 ot./min, 6 pásem

Magnetická míchačka Heidolph MR 3001, 100 – 1250 ot./min

Malver zetasizer ZS 90

2.2 Pomůcky

Kádinky

Lžičky

Skleněné tyčinky

Skleněné lahvičky s víčkem

Injekční stříkačky

Kyvety

Eksikátor

2.3 Chemikálie

Dichlormethan - Lachema a.s. Neratovice, M=84,93 g/mol, ρ = 23- 24/25 - 36/37

Lecitin- α lecitin – typ II S, sojový, P-5638, Sigma Aldrich

Poly(DL-mléčná) (PDLLA) - KFT UK FaF Hradec Králové

Polymery: M-18-M, 3M, 3D - KFT UK FaF Hradec Králové

PS 20- polysorbát 20, Kulich, Hradec Králové

Px 407- poloxamer 407, Surfactants, UK

P_x 6400- poloxamer 6400, Basf, Germany

P_x 6800- poloxamer 6800, Surfactants, UK

2.3.1 Vlastnosti použitých polymerů

M-18-M

Obsahuje 0,75 % mannitolu

$M_w(\text{SEC}) = 10\,700$

$M_w(\text{SEC-MALS}) = 12\,200$

3D

$M_n(\text{SEC}) = 3\,600$

$M_w(\text{SEC}) = 5\,300$

$M_w(\text{SEC-MALS}) = 6\,360$

$T_g = 27,3\text{ }^\circ\text{C}$

3M

$M_n(\text{SEC}) = 2\,600$

$M_w(\text{SEC}) = 3\,800$

$M_w(\text{SEC-MALS}) = 4\,100$

$T_g = 23,7\text{ }^\circ\text{C}$

Nehomogenita dat je způsobená dlouhým časovým odstupem (asi 6 let) mezi syntézou prvního a dalších.

2.4 Příprava nanočástic

K přípravě nanočástic jsme použili metodu odpařování rozpouštědla (viz teoretická část), která je založena na přípravě emulze typu olej ve vodě. Vodná fáze je tvořena tensidy. My jsme používali směs dvou tensidů. Jedním z nich byl vždy lecitín a to v koncentraci 0,5 %, 0,75 %, 1 % nebo 1,5 %. Jako druhý tensid jsme používali PS, P_X 407, P_X 6800 nebo P_X 6400 v 0,25 % a 0,5 % koncentraci. Organickou fází tvoří polymer a účinná látka. My jsme používali 4 typy polymerů : kyselinu poly(DL-mléčnou), 3M, 3D a M-18-M v koncentracích 1 % a 2 %. Jako léčivo byl použit terbinafin, hydrochlorid terbinafinu a baze terbinafinu v koncentraci 10 %, 20 % a 30 %. Jako rozpouštědlo jsme použili dichlormethan.

Příprava vodné fáze

Na analytických vahách jsme do kádinky navážili potřebné množství lecitinu a příslušného tensidu a doplnili destilovanou vodou do 50 g. Rozpouštění jsme

urychlovali minutovým zahřáním v mikrovlnné troubě nebo ponořením do ultrazvukové lázně.

Příprava organické fáze (roztok polymeru v rozpouštědle a léčiva)

Na analytických vahách jsme navážili příslušné množství polymeru a přidali odpovídající množství dichlormethanu. Do skleněné lahvičky s víčkem jsme navážili potřebné množství terbinafinu a poté rozpustili v roztoku dichlormethanu.

Kádinku s vodnou fází jsme umístili na homogenizátor a za mírného míchání (stupeň 2) přidali roztok organické fáze. Tuto směs jsme homogenizovali po dobu 1,5 minuty na stupni 6 (tj. 26 000 otáček/min). Po ukončení homogenizace jsme směs ihned přelili do předem připravených kádinek se 150 ml destilované vody umístěných na magnetické míchačce. Tady zůstaly kádinky po dobu 1-2 hodin, dokud se neodpařilo rozpouštědlo. Po odpaření rozpouštědla vznikly v organické fázi pevné částičky. U hotových nanočástic jsme na Zetasizeru proměřovali jejich velikost a zeta potenciál. Výsledky jsou zaznamenány v tabulkách a grafech.

Příprava baze terbinafinu

Hydrochlorid terbinafinu jsme rozpustili v destilované vodě na 1 % roztok. Rozpouštění jsme urychlovali zahřáním a ponořením do ultrazvukové lázně. K roztoku jsme přidávali 10 % roztok amoniaku až do změny pH ($\text{pH} \sim 8$). Došlo k mléčnému zakalení roztoku. Dále jsme přidali poloviční množství chloroformu a po dobu dvaceti minut vytřepávali v dělicí baňce. Vzniklou vodnou fází jsme z dělicí baňky odpustili, k vodné fázi jsme přidali druhou část chloroformu a znovu jsme dvacet minut protřepávali. Vodná fáze – roztok terbinafinu a organická fáze – baze terbinafinu byly v poměru 1:2. Vzniklý organický roztok jsme odpařili ve vakuové sušárně do sucha, vznikl olejovitý produkt baze terbinafinu. Při delším stání na světle (dva až tři dny) došlo k oranžovo-červenému zbarvení.

2.5 Výpočty

2.5.1 Příprava vodné fáze

Při přípravě vodné fáze jsme směs příslušných tenzidů doplňovali vždy do hmotnosti 50 g destilovanou vodou.

Směs tenzidů: 0,75 % Lecitin; 0,25 % PS/P_x

0,75 % Lecitin 0,375 g
 0,25 % PS/P_x 0,125 g

Směs tenzidů: 0, 5 % Lecitin; 0,5 % PS/P_x

0,5 % Lecitin 0,250 g
 0,5 % PS/P_x 0,250 g

Směs tenzidů: 0, 25 % Lecitin; 0,75 % PS/P_x

0,25 % Lecitin 0,125 g
 0,75 % PS/P_x 0,375 g

Pro přípravu několika vzorků byl k přípravě vodné fáze použit pouze Lecitin a to v koncentracích 1 % a 1,5 %.

Tenzid: 1,5 % Lecitin

1,5 % Lecitin 0,75 g

Tenzid: 1 % Lecitin

1 % Lecitin 0,5 g

2.5.2 Příprava organické fáze

Polymery pro organickou fázi jsme používali v 1 % a 2 % koncentracích. Při použití 2 % koncentrace polymeru nebylo použito léčivo (terbinafin). Pokud jsme použili 1 % koncentraci polymeru přidávali jsme terbinafin v koncentracích 10 %, 20 % a 30 %.

1 % M-18-M / 3 D / 3 M / PDLLA

0,1 g M-18-M / 3 D / 3 M / PDLLA 10 g dichlormethan

10 % terbinafin / terbinafin HCl / terbinafin baze

0,1 g směsi polymeru s léčivem 100 %
 0,01 g terbinafinu 10 %

20 % terbinafin / terbinafin HCl / terbinafin baze

0,1 g směsi polymeru s léčivem 100 %
 0,02 g terbinafinu 20 %

30 % terbinafin / terbinafin HCl / terbinafin baze

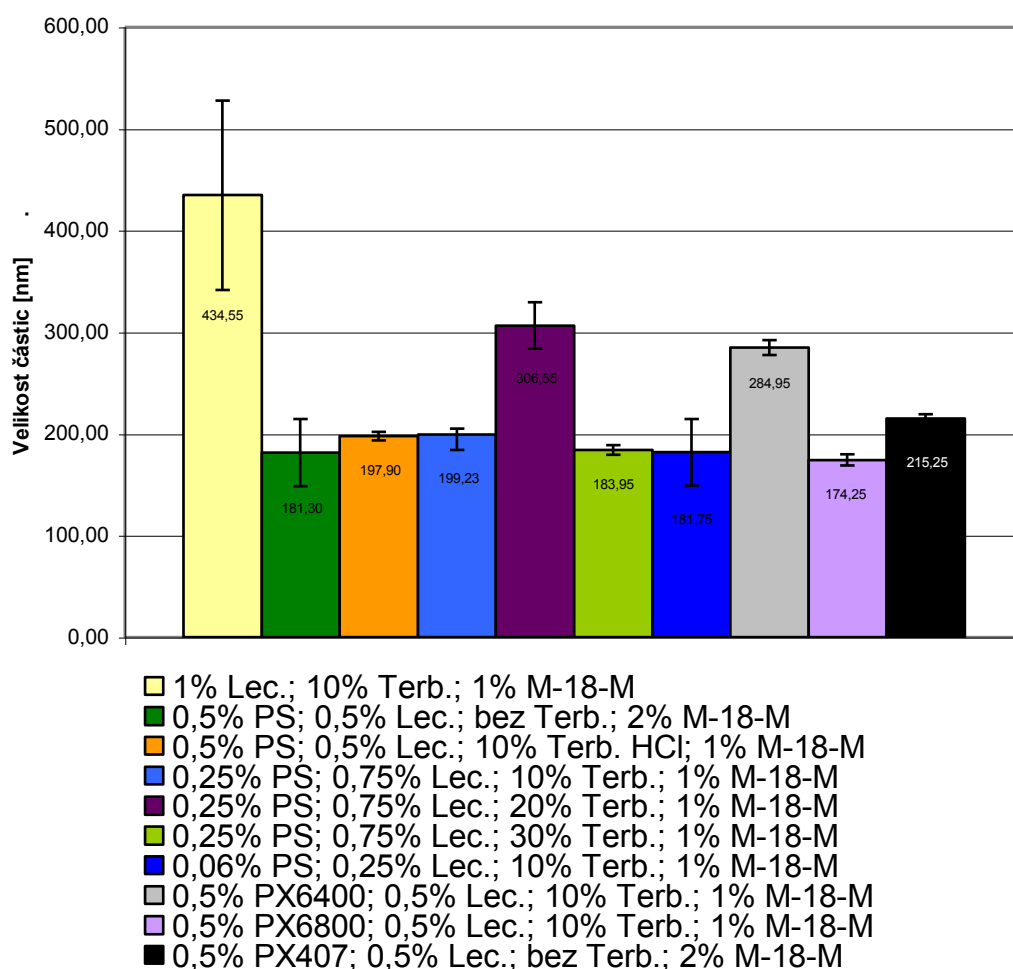
0,1 g směsi polymeru s léčivem 100 %
 0,03 g terbinafinu 30 %

2.6 Výsledky měření

2.6.1 Velikost částic a zeta potenciál polymeru M-18-M při teplotě 25°C

Název vzorku	Velikost částic [nm]
1% Lec.; 10% Terb.; 1% M-18-M	434,55
0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% M-18-M	181,30
0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. HCl; 1% M-18-M	197,90
0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% M-18-M	199,23
0,25% PS; 0,75% Lec.; 20% Terb.; 1% M-18-M	306,55
0,25% PS; 0,75% Lec.; 30% Terb.; 1% M-18-M	183,95
0,06% PS; 0,25% Lec.; 10% Terb.; 1% M-18-M	181,75
0,5% PX6400; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% M-18-M	284,95
0,5% PX6800; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% M-18-M	174,25
0,5% PX407; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% M-18-M	215,25

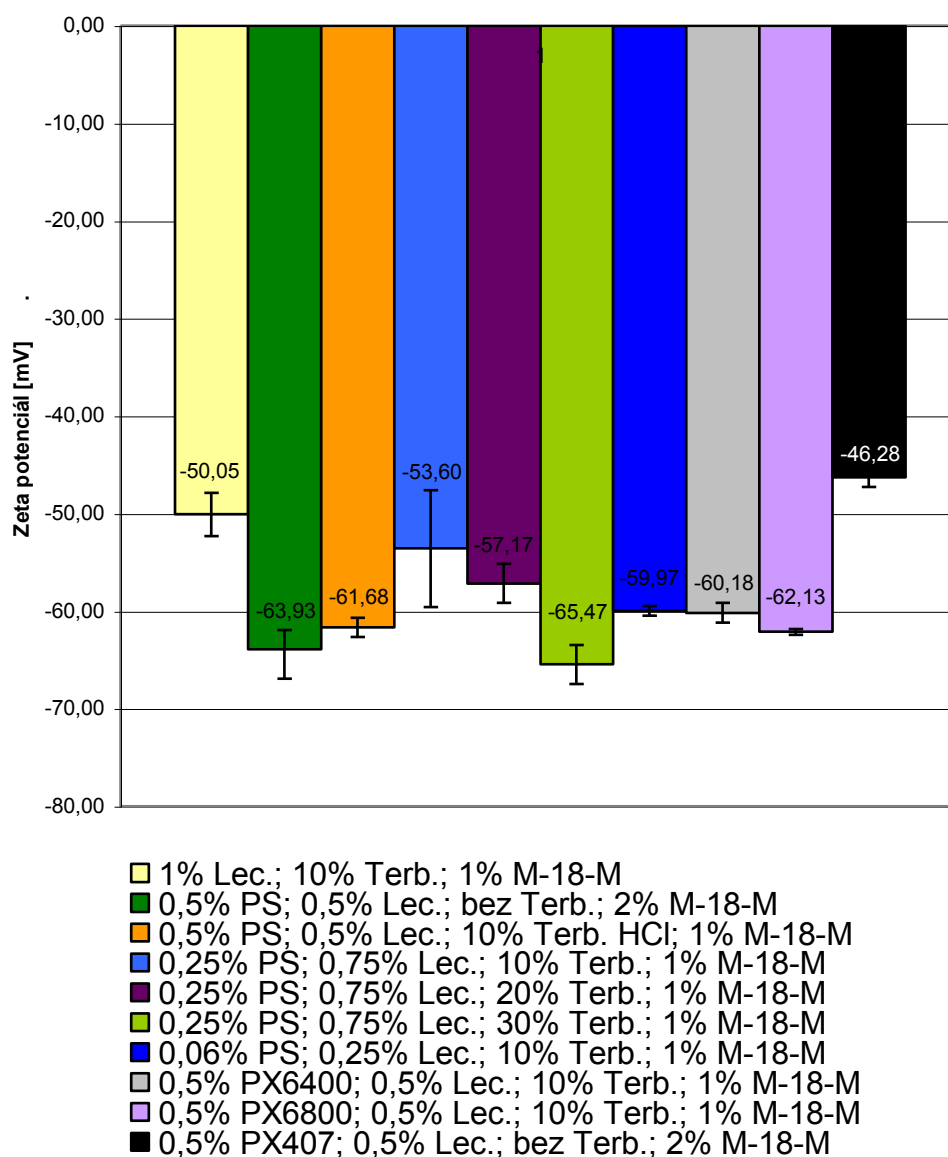
Tabulka: 1. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru M-18-M



Graf: 1. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru M-18-M

Název vzorku	Zeta potenciál [mV]
1% Lec.; 10% Terb.; 1% M-18-M	-50,05
0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% M-18-M	-63,93
0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. HCl; 1% M-18-M	-61,68
0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% M-18-M	-53,60
0,25% PS; 0,75% Lec.; 20% Terb.; 1% M-18-M	-57,17
0,25% PS; 0,75% Lec.; 30% Terb.; 1% M-18-M	-65,47
0,06% PS; 0,25% Lec.; 10% Terb.; 1% M-18-M	-59,97
0,5% PX6400; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% M-18-M	-60,18
0,5% PX6800; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% M-18-M	-62,13
0,5% PX407; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% M-18-M	-46,28

Tabulka: 2. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru M-18-M

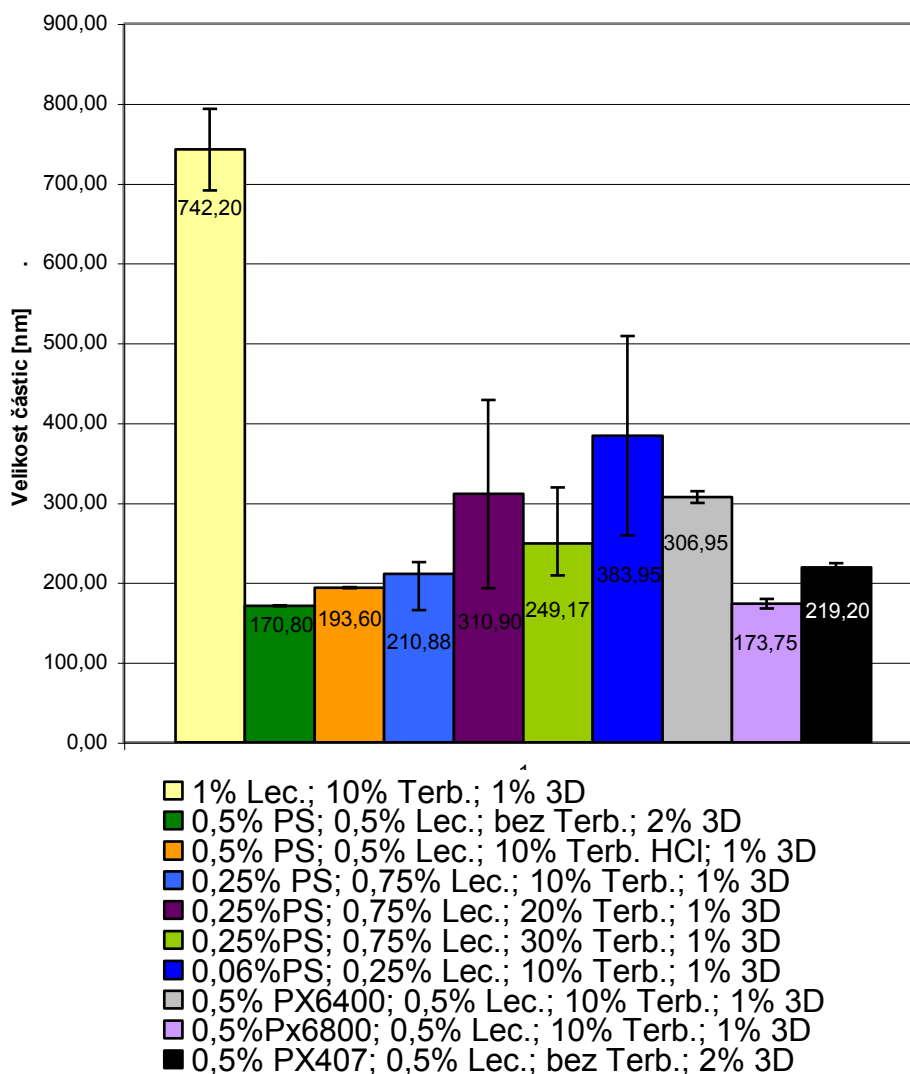


Graf: 2. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru M-18-M

2.6.2 Velikost částic a zeta potenciál polymeru 3 D při teplotě 25°C

Název vzorku	Velikost částic [nm]
1% Lec.; 10% Terb.; 1% 3D	742,20
0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% 3D	170,80
0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. HCl; 1% 3D	193,60
0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% 3D	210,88
0,25% PS; 0,75% Lec.; 20% Terb.; 1% 3D	310,90
0,25% PS; 0,75% Lec.; 30% Terb.; 1% 3D	249,17
0,06% PS; 0,25% Lec.; 10% Terb.; 1% 3D	383,95
0,5% PX6400; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% 3D	306,95
0,5% PX6800; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% 3D	173,75
0,5% PX407; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% 3D	219,20

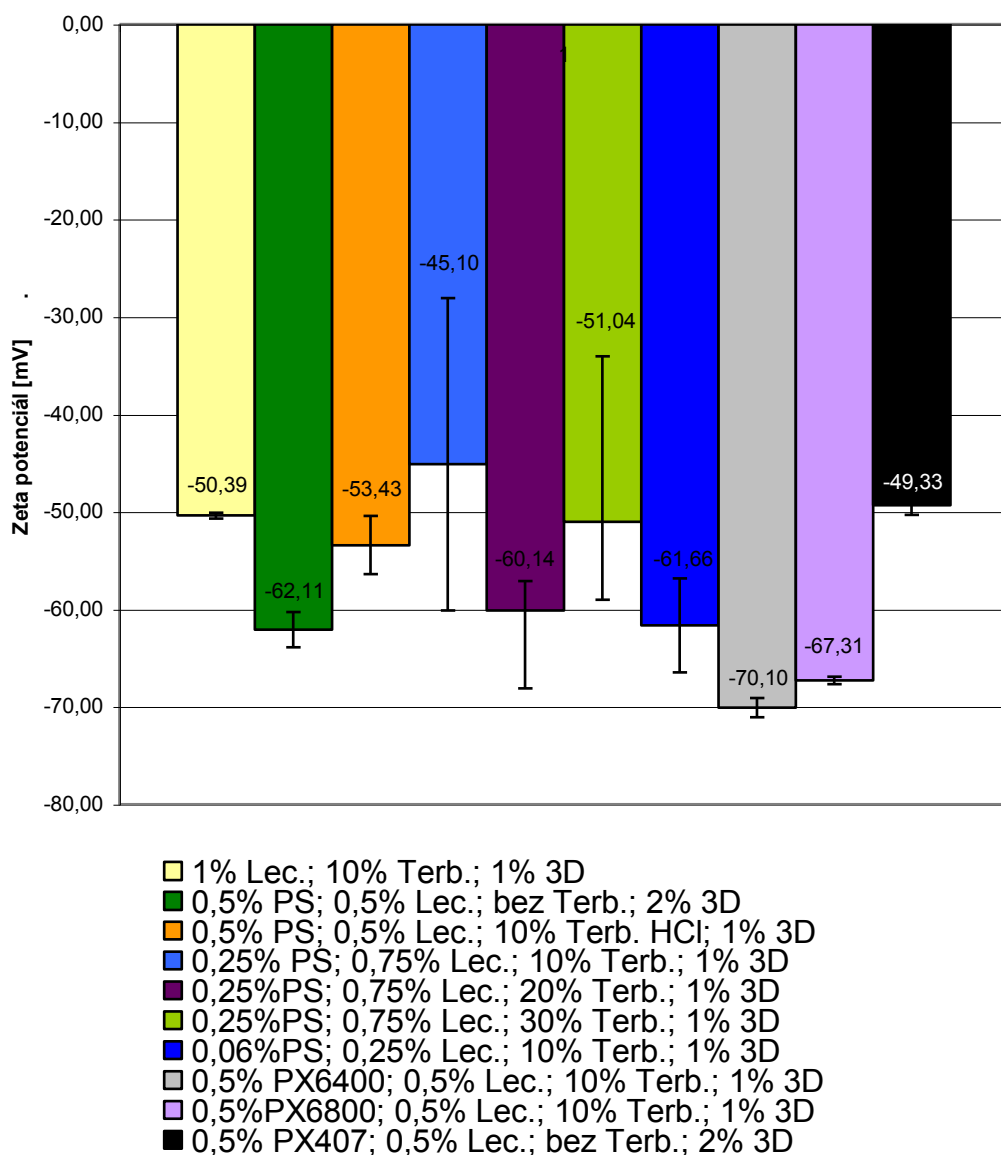
Tabulka: 3. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru 3D



Graf: 3. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru 3D

Název vzorku	Zeta potenciál [mV]
1% Lec.; 10% Terb.; 1% 3D	-50,39
0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% 3D	-62,11
0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. HCl; 1% 3D	-53,43
0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% 3D	-45,10
0,25% PS; 0,75% Lec.; 20% Terb.; 1% 3D	-60,14
0,25% PS; 0,75% Lec.; 30% Terb.; 1% 3D	-51,04
0,06% PS; 0,25% Lec.; 10% Terb.; 1% 3D	-61,66
0,5% PX6400; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% 3D	-70,10
0,5% PX6800; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% 3D	-67,31
0,5% PX407; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% 3D	-49,33

Tabulka: 4. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru 3D

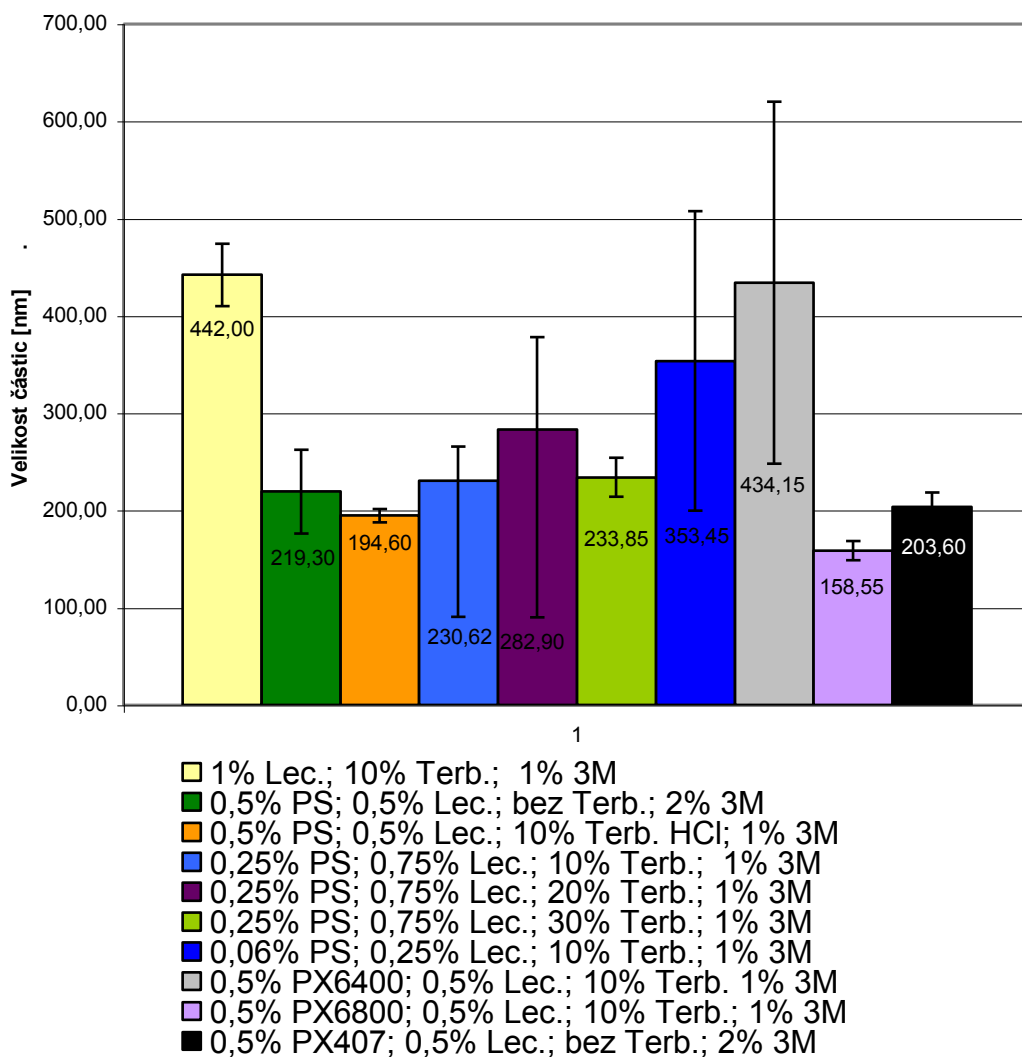


Graf: 4. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru 3D

2.6.3 Velikost částic a zeta potenciál polymeru 3 M při teplotě 25°C

Název vzorku	Velikost částic [nm]
1% Lec.; 10% Terb.; 1% 3M	442,00
0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% 3M	219,30
0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. HCl; 1% 3M	194,60
0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% 3M	230,62
0,25% PS; 0,75% Lec.; 20% Terb.; 1% 3M	282,90
0,25% PS; 0,75% Lec.; 30% Terb.; 1% 3M	233,85
0,06% PS; 0,25% Lec.; 10% Terb.; 1% 3M	353,45
0,5% PX6400; 0,5% Lec.; 10% Terb. 1% 3M	434,15
0,5% PX6800; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% 3M	158,55
0,5% PX407; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% 3M	203,60

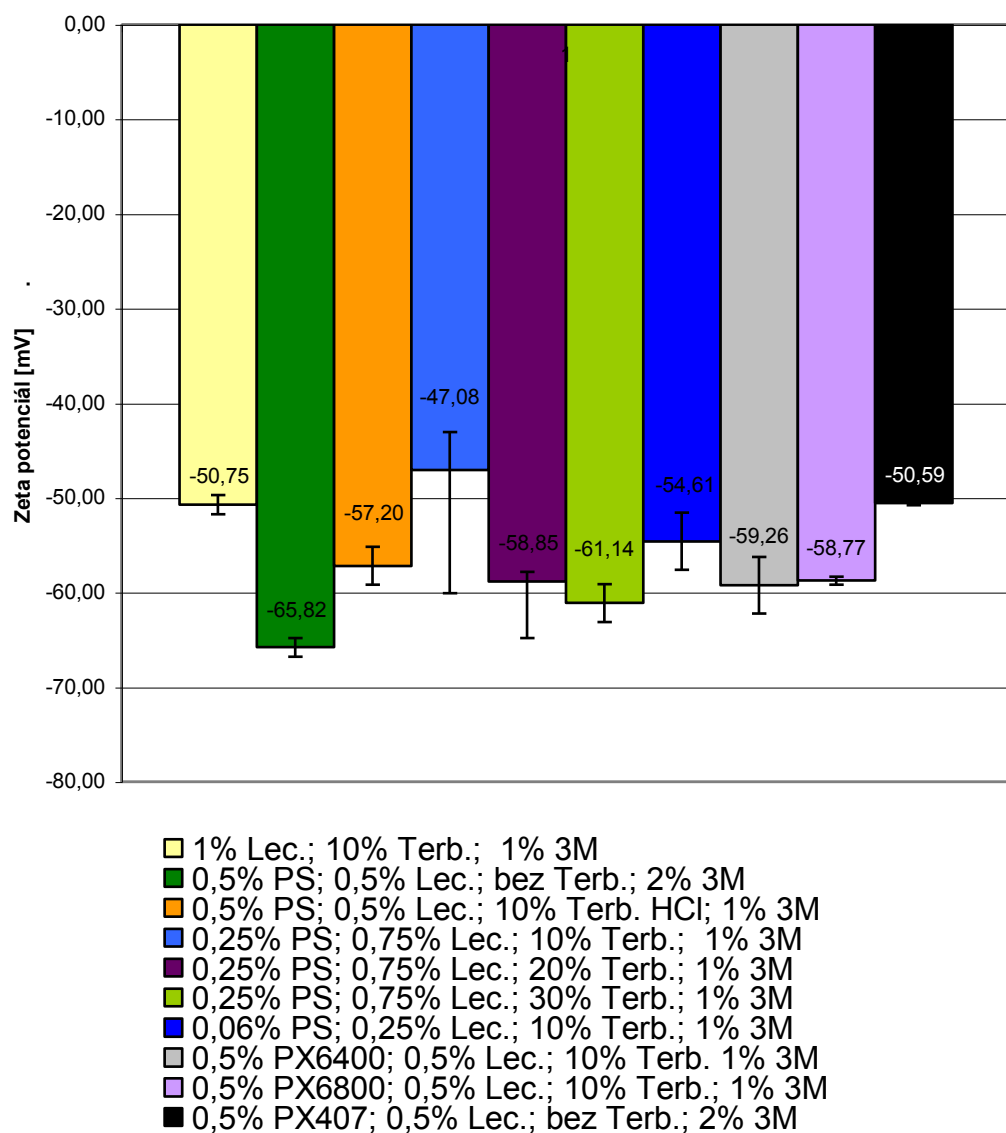
Tabulka: 5. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru 3M



Graf: 5. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru 3M

Název vzorku	Zeta potenciál [mV]
1% Lec.; 10% Terb.; 1% 3M	-50,75
0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% 3M	-65,82
0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. HCl; 1% 3M	-57,2
0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% 3M	-47,075
0,25% PS; 0,75% Lec.; 20% Terb.; 1% 3M	-58,845
0,25% PS; 0,75% Lec.; 30% Terb.; 1% 3M	-61,14
0,06% PS; 0,25% Lec.; 10% Terb.; 1% 3M	-54,605
0,5% PX6400; 0,5% Lec.; 10% Terb. 1% 3M	-59,26
0,5% PX6800; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% 3M	-58,77
0,5% PX407; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% 3M	-50,59

Tabulka: 6. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru 3M



Graf: 6. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru 3M

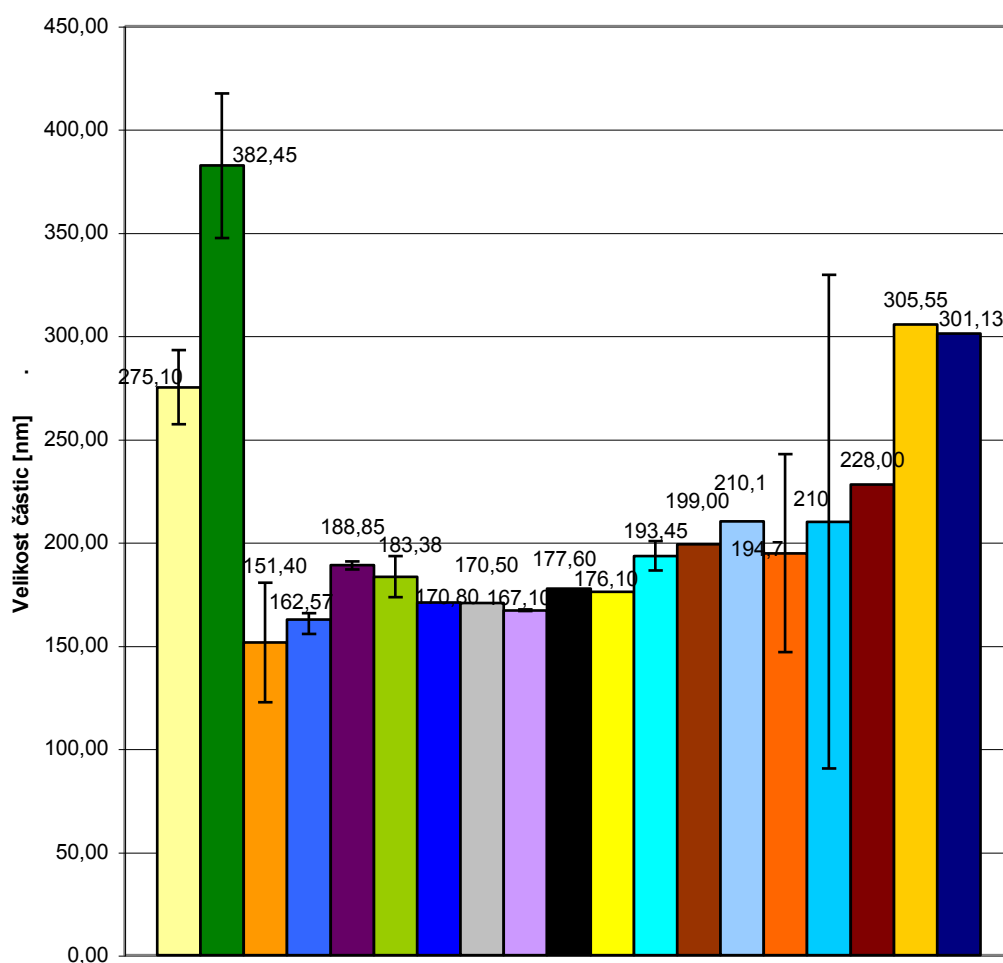
2.6.4 Velikost částic a zeta potenciál polymeru PDLLA při teplotě 25°C

Název vzorku	Velikost částic [nm]
1,5% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA	275,10
1% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA	382,45
0,75% PS; 0,25% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA	151,40
0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA	162,57
0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% PDLLA	188,85
0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. HCl; 1% PDLLA	183,38
0,5% PS; 0,5% Lec.; 20% Terb. HCl; 1% PDLLA	170,80
0,5% PS; 0,5% Lec.; 30% Terb. HCl; 1% PDLLA	170,50
0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. Baze; 1%PDLLA	167,10
0,5% PS; 0,5% Lec.; 20% Terb. Baze; 1% PDLLA	177,60
0,5% PS; 0,5% Lec.; 30% Terb. Baze; 1% PDLLA	176,10
0,25% PS; 0,75% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA	193,45
0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA	199,00
0,25% PS; 0,75% Lec.; 20% Terb.; 1%PDLLA	210,10
0,25% PS; 0,75% Lec.; 30% Terb.; 1% PDLLA	194,70
0,5% PX6400; 0,5% Lec.; 30% Terb.; 1% PDLLA	210,00
0,25% PX6800; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA	228,00
0,5% PX407; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% PDLLA	305,55
0,5% PX407; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA	301,13

Tabulka: 7. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru PDLLA

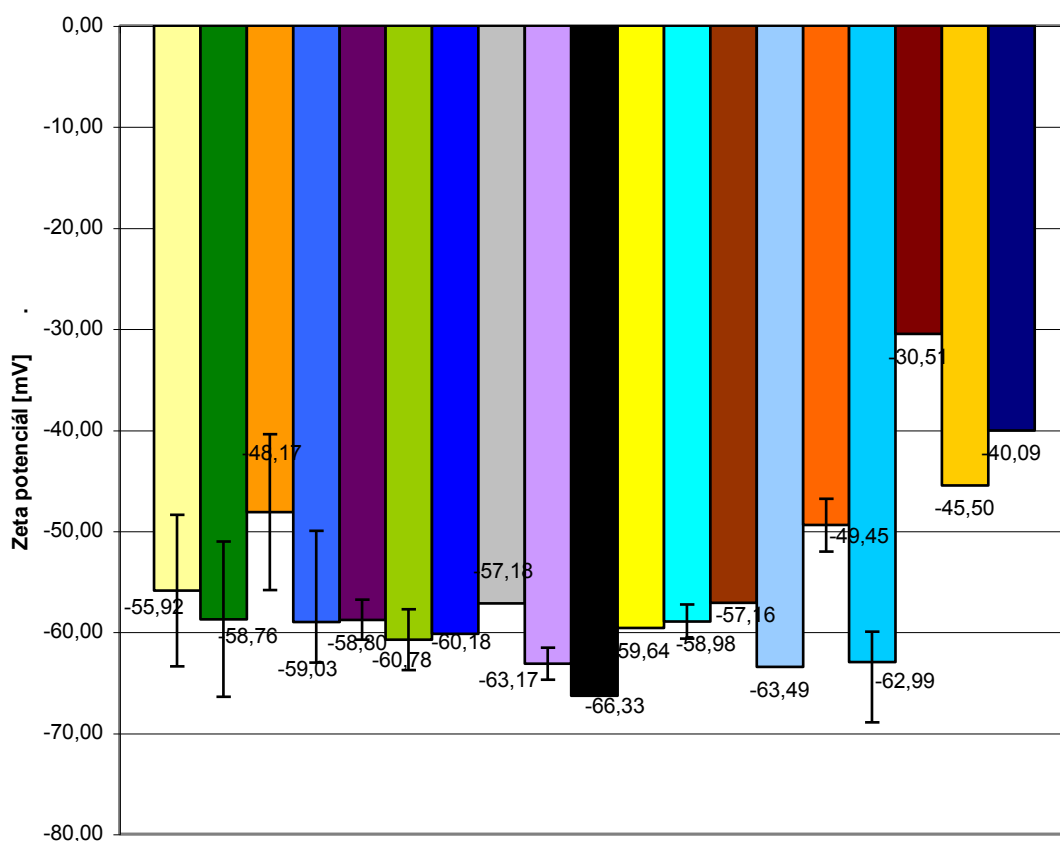
Název vzorku	Zeta potenciál [mV]
1,5% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA	-55,92
1% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA	-58,76
0,75% PS; 0,25% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA	-48,17
0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA	-59,03
0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% PDLLA	-58,80
0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. HCl; 1% PDLLA	-60,78
0,5% PS; 0,5% Lec.; 20% Terb. HCl; 1% PDLLA	-60,18
0,5% PS; 0,5% Lec.; 30% Terb. HCl; 1% PDLLA	-57,18
0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. Baze; 1%PDLLA	-63,17
0,5% PS; 0,5% Lec.; 20% Terb. Baze; 1% PDLLA	-66,33
0,5% PS; 0,5% Lec.; 30% Terb. Baze; 1% PDLLA	-59,64
0,25% PS; 0,75% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA	-58,98
0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA	-57,16
0,25% PS; 0,75% Lec.; 20% Terb.	-63,49
0,25% PS; 0,75% Lec.; 30% Terb.	-49,45
0,5% PX6400; 0,5% Lec.; 30% Terb.	-62,99
0,25%PX6800; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA	-30,51
0,5% PX407; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% PDLLA	-45,50
0,5% PX407; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA	-40,09

Tabulka: 8. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru PDLLA



- 1,5% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA
- 1% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA
- 0,75% PS; 0,25% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. HCl; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 20% Terb. HCl; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 30% Terb. HCl; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. Baze; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 20% Terb. Baze; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 30% Terb. Baze; 1% PDLLA
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; 20% Terb.; 1% PDLLA
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; 30% Terb.; 1% PDLLA
- 0,5% PX6400; 0,5% Lec.; 30% Terb.; 1% PDLLA
- 0,25% PX6800; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA
- 0,5% PX407; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% PDLLA
- 0,5% PX407; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA

Graf: 7. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru PDLLA



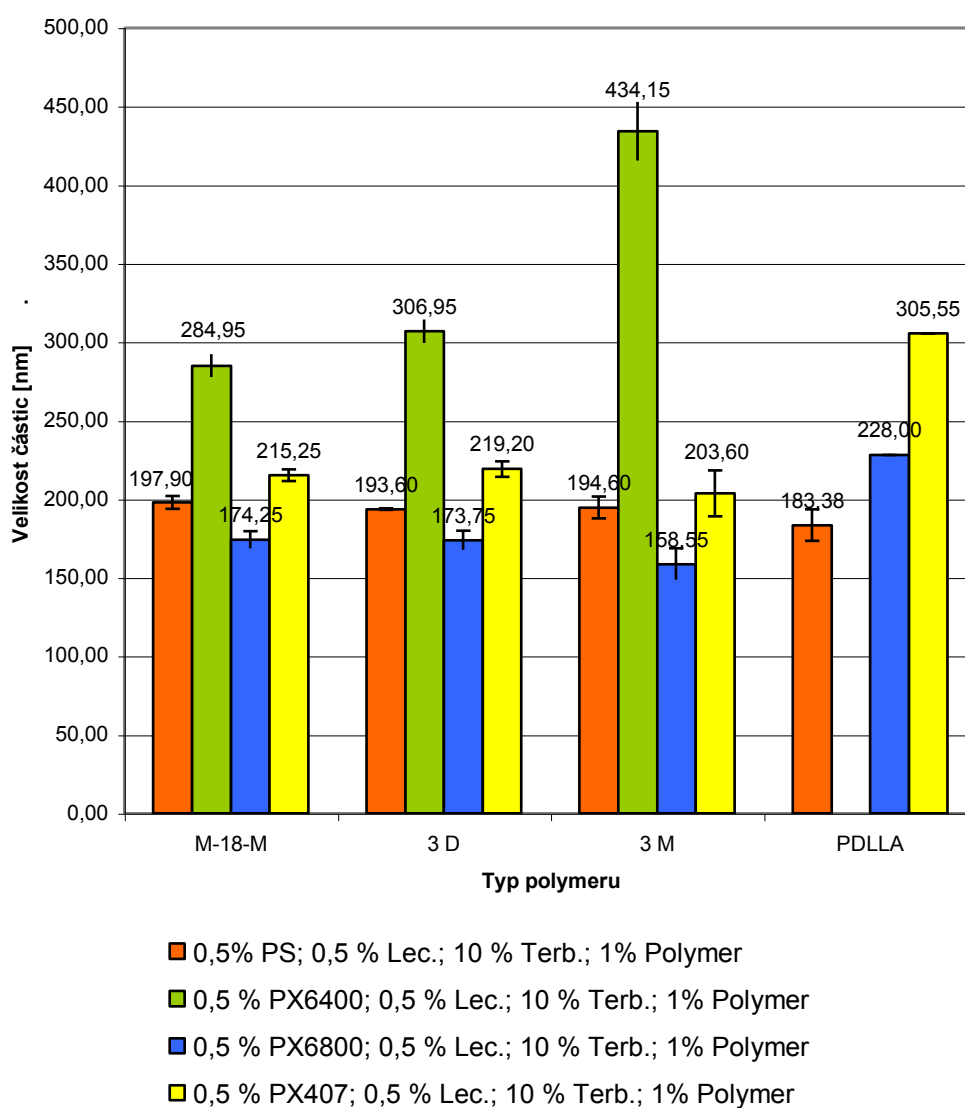
- 1,5% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA
- 1% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA
- 0,75% PS; 0,25% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. HCl; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 20% Terb. HCl; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 30% Terb. HCl; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb. Baze; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 20% Terb. Baze; 1% PDLLA
- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 30% Terb. Baze; 1% PDLLA
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; bez Terb.; 1% PDLLA
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; 20% Terb.
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; 30% Terb.
- 0,5% PX6400; 0,5% Lec.; 30% Terb.
- 0,25% PX6800; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA
- 0,5% PX407; 0,5% Lec.; bez Terb.; 2% PDLLA
- 0,5% PX407; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% PDLLA

Graf: 8. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru PDLLA

2.6.5 Vliv typu použitého tenzidu na velikost částic a zeta potenciál

Složení: 0,5% Tenzid; 0,5% Lecitin; 10% Terbinafin; 1% Polymer				
Tenzid	Velikost částic [nm]			
	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
PS	197,90	193,60	194,60	183,38
PX 6400	284,95	306,95	434,15	-----
PX 6800	174,25	173,75	158,55	228,00
PX 407	215,25	219,20	203,60	305,55

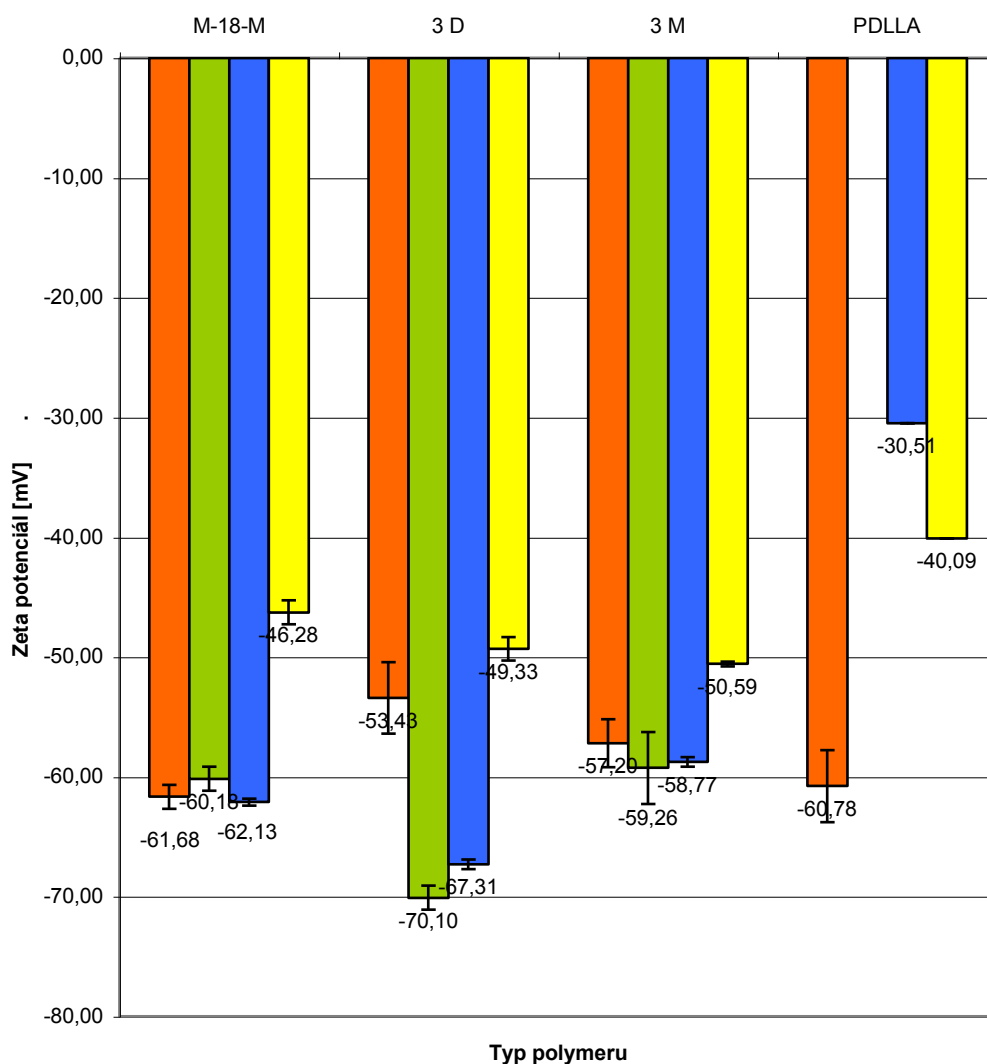
Tabulka: 9. Vliv typu použitého tenzidu na velikost částic



Graf: 9. Vliv typu použitého tenzidu na velikost částic

Složení: 0,5% Tenzid; 0,5% Lecitin; 10% Terbinafin; 1% Polymer				
Tenzid	Zeta potenciál [mV]			
	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
PS	-61,68	-53,43	-57,20	-60,78
PX 6400	-60,18	-70,10	-59,26	-----
PX 6800	-62,13	-67,31	-58,77	-30,51
PX 407	-46,28	-49,33	-50,59	-40,09

Tabulka: 10. Vliv typu použitého tenzidu na zeta potenciál

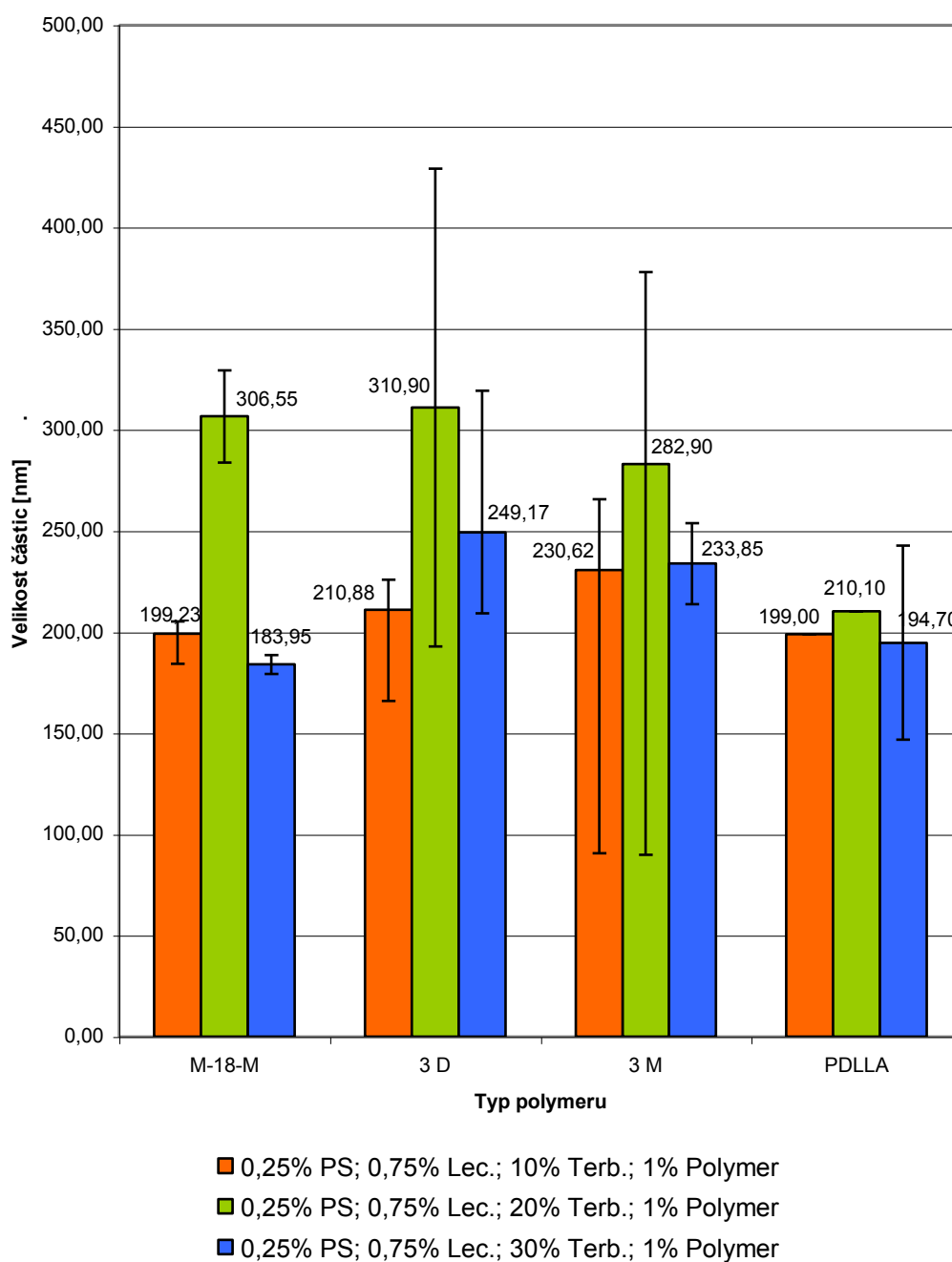


Graf: 10. Vliv typu použitého tenzidu na zeta potenciál

2.6.6 Vliv koncentrace terbinafinu na velikost částic a zeta potenciál

Složení: 0,25% PS; 0,75 % Lec.; X % Terb.; 1% Polymer				
Terbinafin [%]	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
	[nm]			
10	199,23	210,88	230,62	199,00
20	306,55	310,90	282,90	210,10
30	183,95	249,17	233,85	194,70

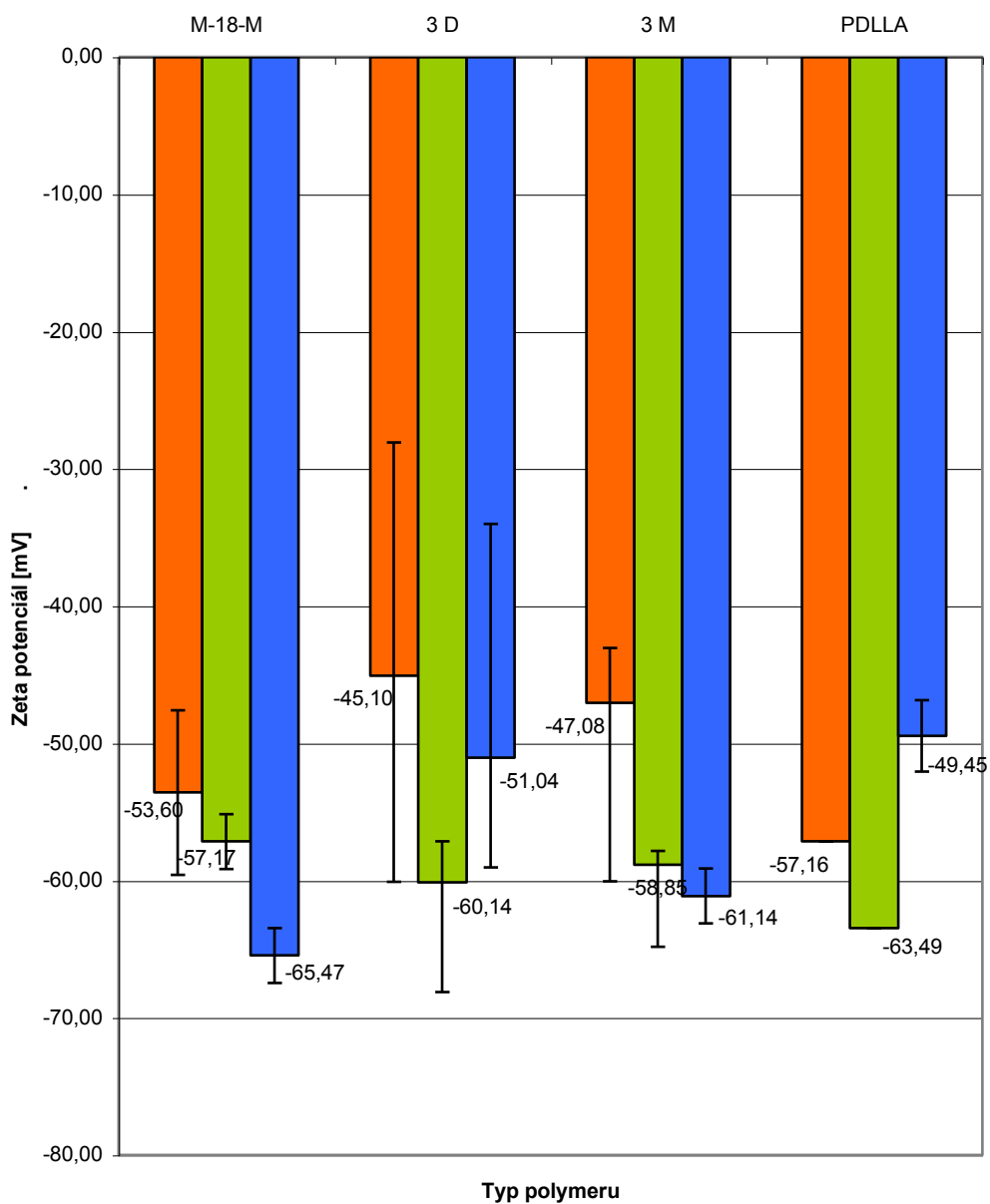
Tabulka: 11. Vliv koncentrace terbinafinu na velikost částic



Graf: 11. Vliv koncentrace terbinafinu na velikost částic

Složení: 0,25% PS; 0,75 % Lec.; X % Terb.; 1% Polymer				
Terbinafin	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
[%]	[mV]			
10	-53,60	-45,10	-47,08	-57,16
20	-57,17	-60,14	-58,85	-63,49
30	-65,47	-51,04	-61,14	-49,45

Tabulka: 12. Vliv koncentrace terbinafinu na zeta potenciál



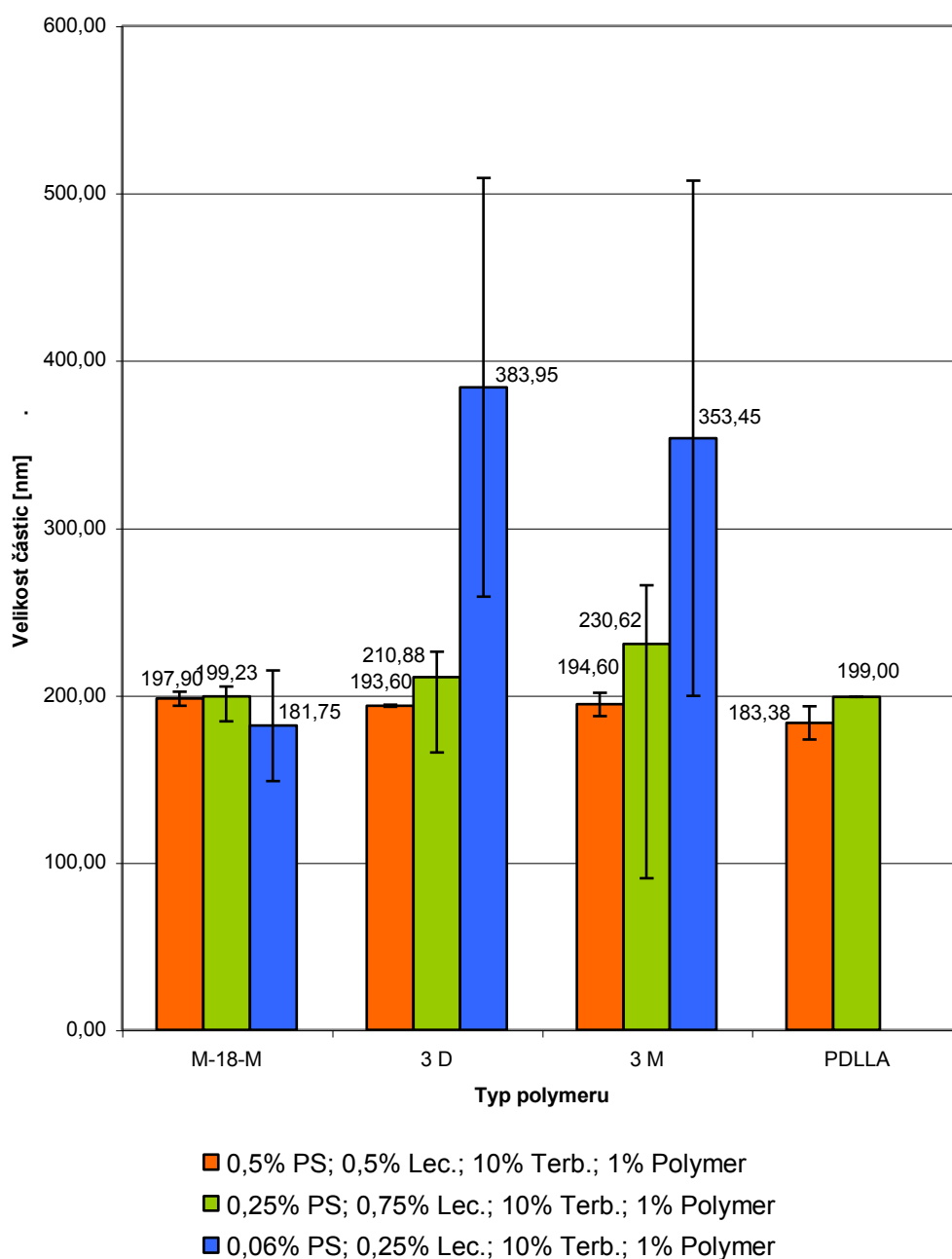
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% Polymer
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; 20% Terb.; 1% Polymer
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; 30% Terb.; 1% Polymer

Graf: 12. Vliv koncentrace terbinafinu na zeta potenciál

2.6.7 Vliv koncentrace PS na velikost částic a zeta potenciál

Složení: X% PS; Y % Lec.; 10 % Terb.; 1% Polymer					
lecitin	PS	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
[%]		[nm]			
0,50	0,50	197,90	193,60	194,60	183,38
0,75	0,25	199,23	210,88	230,62	199,00
0,25	0,06	181,75	383,95	353,45	-----

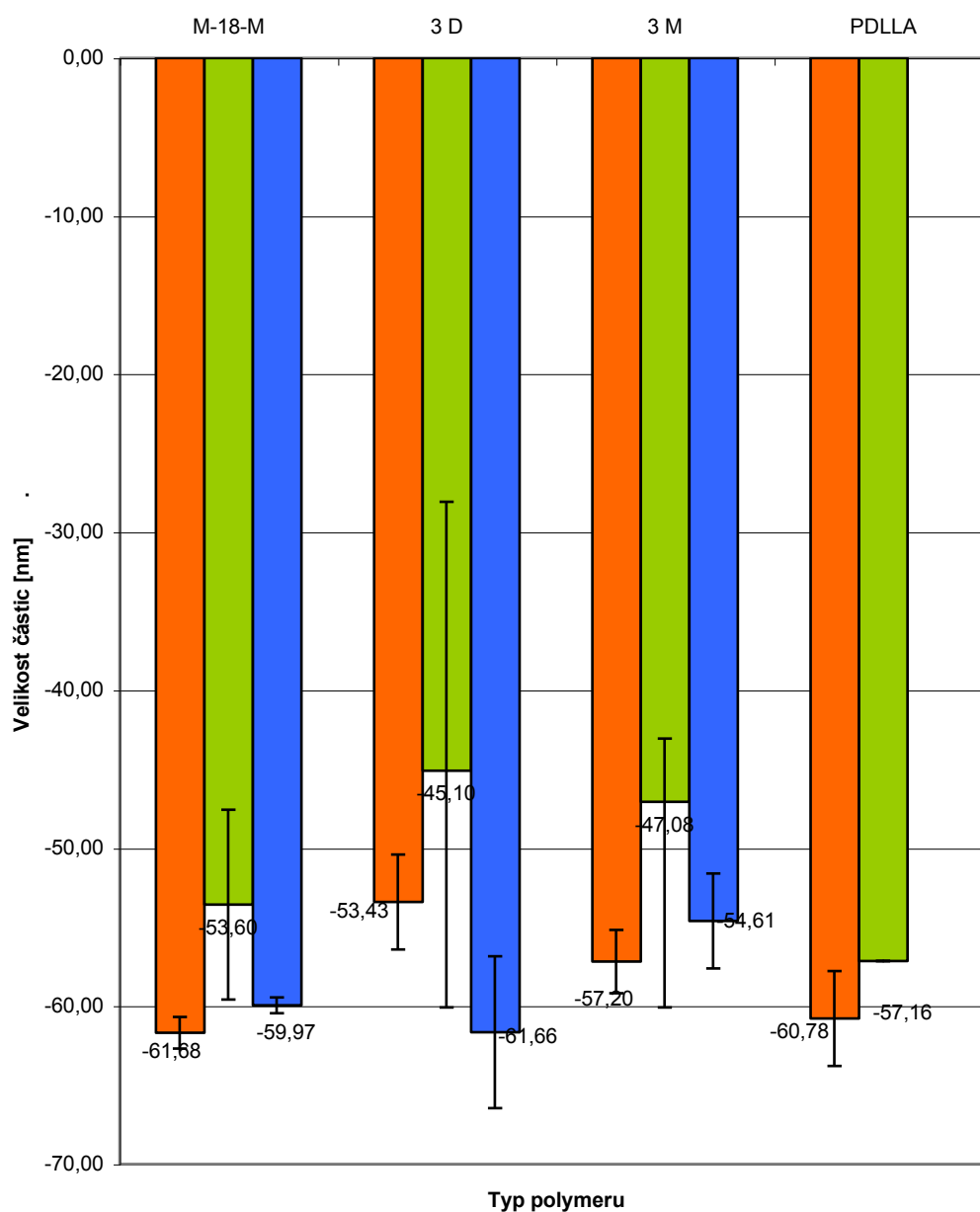
Tabulka: 13. Vliv koncentrace PS na velikost částic



Graf: 13. Vliv koncentrace PS na velikost částic

Složení: X% PS; Y% Lec.; 10% Terb.; 1% Polymer					
lecitin	PS	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
[%]		[mV]			
0,50	0,50	-61,68	-53,43	-57,20	-60,78
0,75	0,25	-53,60	-45,10	-47,08	-57,16
0,25	0,06	-59,97	-61,66	-54,61	-----

Tabulka: 14. Vliv koncentrace PS na zeta potenciál



- 0,5% PS; 0,5% Lec.; 10% Terb.; 1% Polymer
- 0,25% PS; 0,75% Lec.; 10% Terb.; 1% Polymer
- 0,06% PS; 0,25% Lec.; 10% Terb.; 1% Polymer

Graf: 14. Vliv koncentrace PS na zeta potenciál

3 Diskuse

3.1 Cíl práce

V zadání tématu a cíle diplomové práce bylo předloženo rozšířit v realizovaných experimentech dosavadní poznatky o možnostech přípravy biodegradabilních oligoesterových nanočástic s terbinafinem jako modelovým léčivem. Obecně formulovaný cíl byl specifikován v následujících dílčích aspektech:

- Terbinafin inkorporovat do nanočástic v různých koncentracích, nejlépe v 10 % až 30 %.
- Jako nosiče nanočástic vybrat oligoestery alifatických hydroxykyselin syntetizované na pracovišti školitele lišící se stupněm větvení a typem větvicí složky.
- Nanočástice připravit dispergací roztoku nosiče a léčiva v dichlormethanu metodou formulace emulze typu olej ve vodě.
- Jako emulgátor vyzkoušet sojový lecitin a různé binární kompozice založené na sojovém lecitinu ve směsi s polysorbátem nebo poloxamerem.

3.2 Téma a metodika práce

Téma předložené diplomové práce je součástí experimentálních prací, jejichž cílem je hledat možnosti přípravy medikovaných nanočástic s vysokou efektivitou procesů, vhodnými parametry produktů, včetně parametrů interakce s biologickými systémy.

Výhodnost biodegradabilních větvených oligoesterů odvozených od alifatických hydroxykyselin byla již dříve prokázána. Tyto sloučeniny jsou vysoce biokompatibilní, mají výhodné parametry biodegradability, produkty degradačních dějů jsou netoxické a snadno eliminovatelné. Pro řešení tématu byly ze sbírek oddělení polymerů a biomateriálů katedry farmaceutické technologie vybrány čtyři nosiče, které se lišily jednak typem větvicí složky, reprezentovaným mannitolem a dipentaerytritolem, dále koncentrací dipentaerytritolu. Oba faktory se podílejí na různém stupni větvení. Byl také vybrán polymer kyseliny DL-mléčné jako relativně více hydrofóbní nosič s lineárním řetězcem. Jako modelové léčivo byl vytipován

terbinafin, který byl z komerčně dostupného hydrochloridu převeden na bazi. Tato база je ve vodě prakticky nerozpustná.

Pro přípravu nanočástic metodou emulgace systému olej ve vodě byly hledány různé emulgátory. Požadavkem byla jejich vysoká účinnost v systému a také nízká toxicita. Jako hlavní emulgátor byl vybrán lecitin, který je používán také při formulaci parenterální výživy. K němu byl přidáván poloxamer nebo polysorbát. Tyto emulgátory mají relativně nízké toxické dávky.

Důležitými parametry farmaceutických nanočástic, které souvisí s jejich farmakoterapeutickým působením a s jejich stabilitou, je jejich velikost a hodnota jejich elektrokinetického potenciálu. Oba parametry byly měřeny pomocí zařízení Zetasizer. Princip metody měření pomocí tohoto přístroje je popsán v teoretické části této práce.

3.3 Nanočástice z nosiče větveného mannitolem v malé koncentraci

Nosič označený M-18-M, který obsahoval 0,75 % mannitolu jako reaktantu polykondenzační reakce, měl vysoké hodnoty molekulové hmotnosti a teploty skelného přechodu. Při nízké koncentraci mannitolu a při omezené reaktivitě jeho sekundárních hydroxylů je vysoce pravděpodobný podíl lineárních struktur. Z toho je možno předpokládat vyšší viskozitu roztoků a nižší rychlost degradace.

V tabulce 1 a v grafu 1 je dokumentována střední velikost nanočástic připravených z 1 % nebo 2 % roztoků nosiče s různým podílem baze terbinafinu. Systémy emulze typu olej ve vodě se lišily složením emulgátoru. Největší nanočástice s 10 % terbinafinem byly připraveny pomocí 1 % lecitinu. Uvedený emulgátor tedy neměl dostatečnou účinnost. Po přidání 0,5 % poloxameru k lecitinu bylo možno snížit koncentraci lecitinu na polovinu. Koncentrace směsného emulgátoru byla tedy 1 %. Velikost se měnila s typem poloxameru. Nanočástice s 10 % terbinafinem měly rozměr mezi 175 nm (Poloxamer 6800) a 285 nm (Poloxamer 6400).

Jako výhodná se jevila kombinace lecitinu s polysorbátem. Pokud byl dispergován roztok nosiče bez terbinafinu, bylo možno použít i jeho dvojnásobnou (2 %) koncentraci. Nanočástice s 10 % hydrochloridem terbinafinu připravené z 1 %

roztoku nosiče byly o poznání větší, jejich rozměr se zvýšil asi o 10 %. Také změna poměru polysorbátu a lecitinu jako emulgátorů z 1:1 na 1:3 byla prokázána jako akceptovatelná pro 10 % a 30 % bází terbinafinu. Při 20 % koncentraci léčiva se velikost nanočástic zvýšila o více než 100 nm. Příčina tohoto jevu není v tomto stádiu experimentů známa. Jako pozoruhodnou skutečnost je možno hodnotit dostatečnou účinnost směsného emulgátoru při jeho koncentraci snížené z 1 % na 0,31 % v poměru složek 1:4. Byly získány velmi malé nanočástice s rozměrem 182 nm.

V tabulce 2 a v grafu 2 jsou hodnoty zeta potenciálu nanočástic z nosiče M-18-M. Nejnižší hodnota (-46 mV) byla naměřena u nanočástic bez terbinafinu při použití směsi lecitinu s vysokomolekulárním poloxamerem, který působil také mechanismem hydratačního obalu makrogolových řetězců. Zajímavý je také nižší zeta potenciál samotného lecitinu (-50 mV). Za pozornost také stojí růst hodnot charakteristiky s koncentrací terbinafinu při použití polysorbátu a lecitinu v poměru 1:3. Nanočástice připravené ze stejných dílů polysorbátu a lecitinu neobsahující terbinafin i obsahující hydrochlorid terbinafinu měly podobné hodnoty zeta potenciálu. Nelze zde vyloučit únik léčiva do vnější fáze.

3.4 Nanočástice z nosiče větveného mannitolem ve vyšší koncentraci

Nosič byl označen symbolem 3M. Obsahoval přibližně 3 % mannitolu v reakční směsi, tedy čtyřikrát vyšší koncentraci než výše popsany M-18-M. Je možno předpokládat vyšší stupeň větvení s nižším podílem lineárních struktur. Měl nižší molekulovou hmotnost a nižší hodnotu teploty skelného přechodu.

V tabulce 5 a v grafu 5 jsou hodnoty parametru velikosti nanočástic. Jako překvapivý je možno označit větší rozměr nanočástic v souboru týkajícím se nosiče 3M ve srovnání s více viskózními roztoky M-18-M. Relace ve velikosti v rámci jednotlivých vzorků připravených za působení stejného souboru vlivů byly zhruba stejné. U nanočástic připravených pomocí 1 % lecitinu byly zaznamenány největší hodnoty velikosti částic. Kombinace lecitinu s poloxamerem 6400 vedla taktéž k větším partikulím. Změnou je nedostatečná účinnost kombinace

0,06 % polysorbátu s 0,25 % lecitinem. Jako zajímavé je možno hodnotit potvrzení jevu zvětšení nanočástic o 50 nm při zvýšení koncentrace baze terbinafinu z 10 % na 20 % a poklesem na původní hodnotu po dalším zvýšení z 20 % na 30 %. Příčinu tohoto píku bude nutno hodnotit z aspektu viskozity. Zvýšení koncentrace nosiče v dichlormethanovém roztoku z 1 % na 2 % se neprojevilo výrazně na velikosti nanočástic. Nejmenší nanočástice (159 nm) byly naměřeny ve vzorcích obsahujících roztok 10 % baze terbinafinu v nosiči 3M emulgovaném kombinací lecitinu a poloxameru 6800.

V tabulce 6 v grafu 6 jsou hodnoty zeta potenciálu nanočástic z nosiče 3M. Stejně jako v případě velikosti je možno dojít k poznatku o velmi podobných vlivech emulgátorů na elektrokinetický potenciál. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u různých směsí lecitinu s polysorbátem. Koncentrace baze terbinafinu se kupodivu neprojevila. Nejvyšší hodnota zeta potenciálu byla naměřena u nanočástic bez terbinafinu (-66 mV), druhá nejvyšší hodnota (-61 mV) byla u nanočástic s 30 % terbinafinem. Nejnižší hodnoty zeta potenciálu byly u nanočástic připravených disperzací v roztoku samotného lecitinu a celkem logicky v roztoku jeho směsi s výšemolekulárním poloxamerem 407. Pro nízkou hodnotu zeta potenciálu nanočástic ze směsi polysorbátu a lecitinu 1:3 s 10 % terbinafinem není v této fázi hypotéza. Hydrochlorid terbinafinu hodnotu zeta potenciálu neposunul do oblasti extrémních hodnot.

3.5 Nanočástice z nosiče větveného dipentaerytritolem ve vyšší koncentraci

Dipentaerytritol má stejně tak jako mannitol šest hydroxylových skupin. Tyto jsou však při polykondenzační reakci rovnocenné. V tomto případě je možno předpokládat vysoký stupeň větvení nosiče. V případě vysokého větvení mají roztoky nižší viskozitu, která je předpokladem možností pro dosažení menšího rozměru nanočástic.

V tabulce 3 a na grafu 3 jsou uvedeny hodnoty rozměrového intenzitního parametru nanočástic z nosiče 3D s případně přidaným terbinafinem připravených v různých kompozicích kombinovaného emulgátoru. Extrémně velké nanočástice (742 nm)

byly získány pomocí 1 % lecitinu. Stejně tak jako u obou předešle popsaných nosičů se neosvědčila směs lecitinu s poloxamerem 6400 (307 nm) a kombinace polysorbátu s lecitinem 1:3 s 20 % bazí terbinafinu. Jako u hydrofilního nosiče 3M byly i u tohoto nosiče získány větší nanočástice (384 nm) při nízké koncentraci (0,31 %) kombinace polysorbátu s lecitinem 1:4. Naopak jako výhodné se projevíly 2 % roztok nosiče bez terbinafinu (171 nm) a 1 % roztok nosiče s 10 % terbinafinem dispergované v kombinaci lecitinu a polysorbátu nebo lecitinu a poloxameru 6800. Bylo prokázáno, že z výše větveného nosiče 3D nebyly, ve srovnání s výše popsanými, získány menší nanočástice.

Také hodnota zeta potenciálu nebyla významně odlišná od nanočástic z nosičů 3M a M-18-M. Jedinou výraznější změnou jsou vyšší hodnoty charakteristiky v případě nanočástic připravených dispergací ve směsi lecitinu s poloxamerem 6400 (-70 mV) a s poloxamerem 6800 (-67 mV).

3.6 Nanočástice z lineární kyseliny poly(DL-mléčné)

Kyselina poly(DL-mléčná) je nosič, který je méně hydrofobní než tři výše popsané nosiče. Degradace je pomalejší, stupeň bobtnání v počáteční fázi je nižší. Liberace léčiva inkorporovaného do nanočástic je v případě nízké koncentrace koncových skupin méně ovlivněna specifickými parametry molekuly.

V tabulce 7 je výsledek měření velikosti nanočástic. Některé ze vzorků nebyly z výše popsaných nosičů připraveny. Týká se to zvýšené koncentrace lecitinu z 1 % na 1,5 %, která měla důsledek ve zmenšení nanočástic z 382 nm na 275 nm. Dále byla srovnána řada zvyšující se koncentrace hydrochloridu a baze terbinafinu v roztoku nosiče dispergovaného ve směsi lecitin a polysorbát 1:1. Bylo prokázáno, že obě formy terbinafinu nemají výrazný vliv na velikost nanočástic při změně jejich koncentrace z 10 % na 30 %. Totéž se týká změny koncentrace baze terbinafinu v systému s emulgátorem komponovaným ze stejných složek v poměru 3:1.

Kombinace lecitinu a poloxameru se osvědčila méně než kombinace lecitinu s polysorbátem. Lecitin s poloxamerem 407 emulgoval nosič bez terbinafinu méně intenzivně jako u větvených nosičů, velikost nanočástic nebyla ovlivněna změnou koncentrace nosiče z 1 % na 2 %. Pozitivně je možno hodnotit kombinaci lecitinu

s polysorbátem jako velmi účinnou při přípravě nanočástic z kyseliny poly(DL-mléčné). Uvedená kombinace je využitelná v širokém rozmezí podílu složek od 1:3 do 3:1.

V následující tabulce 8 jsou výsledky měření zeta potenciálu nanočástic z kyseliny poly(DL-mléčné). V podstatě se potvrdily výsledky získané u nanočástic z větvených oligoesterů. Vyšší hodnoty byly naměřeny u partikulí připravených z roztoků směsí lecitinu s neionickým polysorbátem než z roztoků samotného lecitinu. Mísení lecitinu s poloxamerem nemělo jednoznačný efekt. Poloxamer 6400 zvýšil hodnotu nevýrazně asi o 4 mV, poloxamer 6800 snížil velmi výrazně asi o 29 mV, poloxamer 407 zvýšit také výrazně o 19 mV.

3.7 Vliv změny koncentrace baze terbinafinu na nanočástice

V tabulce 11 a v grafu 11 je uveden pozoruhodný výsledek, který byl získán v případě změny koncentrace baze terbinafinu v nanočásticích z různých nosičů. Je patrné, že při 20 % koncentraci léčiva byly získány výrazně největší nanočástice. Uvedený výsledek není artefaktem, protože jednotlivé vzorky byly získány v jiném pořadí, než je podle stoupající koncentrace terbinafinu. Podstatu tohoto jevu bude možno posoudit podle dalších měření, především podle viskozity systémů stejného složení, jaké bylo u vnitřní fáze emulze typu olej ve vodě. Největší kontrast se projevil u nosiče M-18-M, menší u 3M a 3D, nejmenší u lineární kyseliny poly (DL-mléčné).

3.8 Vliv tenzidu v kombinaci s lecitinem na nanočástice

Uspořádání výsledků je obdobné jako v tabulce a grafu citovaných v 3.6. Rozdíl je v druhu tenzidu použitého v 0,5 % koncentraci do kombinace se stejnou koncentrací lecitinu. Systémy obsahovaly jednotně 10 % baze terbinafinu. Z tabulky 9 a grafu 9 je patrné, jak důležitá je volba parametrů poloxameru. V systémech s poloxamerem 6400 byly získány největší nanočástice, zatímco v analogických systémech s poloxamerem 6800 byly připraveny nanočástice nejmenší.

V případě zeta potenciálu se volba poloxameru také projevila velmi výrazně. Vysokomolekulární poloxamer 407 stínil náboj lecitinu stéricky, ostatní dva jej

oproti polysorbátu slabě zvyšovaly. Výjimkou jsou nanočástice z kyseliny poly (DL-mléčné), které měly nejvyšší zeta potenciál po přípravě v kombinovaném emulgátoru s polysorbátem.

3.9 Vliv podílu tenzidů v kombinovaném emulgátoru

V tomto případě se jednalo o změnu podílu polysorbátu 20 a vaječného lecitinu v poměrech složek 3:1, 1:1 a 1:3. Celková koncentrace kombinovaného emulgátoru byla 1 % nebo 0,31 %. Koncentrace baze terbinafinu byla jednotně 10 % vzhledem k množství nosiče.

V tabulce 13 a v grafu 13 je vidět, že nejlepší kombinace byla ve stejných dílech obou složek. Větší rozměry nanočástic byly při převažující koncentraci lecitinu. Největší nanočástice byly připraveny při snížené koncentraci tenzidů a dominantním podílu lecitinu s výjimkou nosiče M-18-M. Snížená hodnota zeta potenciálu se objevila překvapivě při vyšším podílu lecitinu v jeho vyšší celkové koncentraci. Nanočástice připravené z nosiče 3D měly při 1 % koncentraci zeta potenciál -45 mV, kdežto nanočástice připravené dispergací v 0,31 % emulgátoru měly zeta potenciál -62 mV, tedy o -17 mV vyšší. Pro uvedený výsledek není v tomto stádiu prací hypotéza.

4 ZÁVĚRY

Z alifatických biodegradabilních oligoesterů různého typu je možno připravit emulzní metodou rozdělování rozpouštědla v systému olej ve vodě nanočástice o rozměrech pod 200 nm. Do těchto nanočástic je možné inkorporovat až 30 % baze terbinafinu bez výrazného ovlivnění jejich velikosti. Jako emulgátor ve vnější vodné fázi se osvědčily kombinace sojového lecitinu s polysorbátem 20, s poloxamerem 6400 nebo poloxamerem 6800. Hodnota zeta potenciálu nanočástic, zpravidla mezi -50 mV a -65 mV, byla dostatečně vysoká pro stabilitu systémů. Měnila se se složením kombinovaného emulgátoru. Typ oligoesterového nosiče měl vliv na velikost nanočástic i na hodnotu jejich zeta potenciálu.

Příloha A – naměřená data polymeru M-18-M při teplotě 25°C

Název vzorku	Z-Ave. [nm]	PDI	Mean Intensity		Area Intensity		Intercept	Measured Intercept	Merit
			Peak 1	Peak 2	Peak 1	Peak 2			
1%lecit,10%terb M-18-M 1% (1)	308,9	0,311	527,4	0	100	0	0,9601	0,923	92,19
1%lecit+10%terb 18-M18 1%(2)	211,9	0,292	341,7	0	100	0	0,9532	0,9093	90,8
0,75%lecit+0,25%PS,10%terb M-18-M 1%(1)	146,5	0,188	183,4	0	100	0	0,9694	0,9406	94,01
0,75%lecit+0,25%PS+10%terb+M18 1% (2)	163,4	0,218	203,6	40,84	98	1	0,9659	0,933	93,25
10%Terb.,1% M-18-M,0,75%Lsoj.+0,25%PS (1)	152,3	0,257	203,2	28,84	98	1	0,968	0,9379	93,71
10%Terb,1% M-18-M,0,75%Ls+0,25%PS (2)	153,9	0,256	206,7	32,97	97	2	0,9666	0,935	93,43
20%terb+1%M-18-M+0,75%lecit+0,25%PS (1)	214,6	0,421	329,3	2201	95	3	0,9166	0,8408	83,99
20%terb+1%M-18-M+0,75%lecit+0,25%PS (2)	192,6	0,386	283,8	2090	96	3	0,9377	0,88	87,92
30%terb+1%M-18-M+0,75%lecit+0,25%PS (1)	145,1	0,234	179,3	0	100	0	0,9533	0,9098	90,74
30%terb+1%M-18-M+0,75%lecit+0,25%PS (2)	148,3	0,229	188,6	0	100	0	0,9566	0,9157	91,45
0,25%lecit+0,06%PS+10%terb+1%M-18-M (1)	158,4	0,33	148,8	35,73	97	2	0,9616	0,9281	92,13
0,25%lecit+0,06%PS+10%terb+1%M-18-M (2)	171,9	0,25	214,7	0	100	0	0,9492	0,9015	90,09
0,5%lecit+0,5%Pluronic 6400+10%+1% M-18-M (1)	189	0,269	277,7	0	99	0	0,9515	0,9059	90,52
0,5%lecit+0,5%Pluronic 6400+10%+1% M-18-M (2)	203	0,267	292,2	0	100	0	0,9552	0,9129	91,22
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1%M-18-M (1)	134,4	0,257	179,6	34,23	96	3	0,9705	0,9428	94,19
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1% M-18-M (2)	125,4	0,252	168,9	23,62	97	2	0,9459	0,8951	89,43
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%M-18-M,bez terbin. (1)	156,9	0,276	211,5	0	100	0	0,9678	0,9373	93,65
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%M-18-M,bez terbin. (2)	150,3	0,274	219	24,88	97	2	0,9671	0,9362	93,51
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%M-18-M,bez terbin. (1)	168,3	0,235	193,9	0	100	0	0,9724	0,9473	94,43
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%M-18-M,bez terbin. (2)	153,7	0,228	168,7	0	100	0	0,973	0,951	94,29
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% M-18-M (1)	156,9	0,212	202,1	0	100	0	0,9651	0,9321	93,11
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% M-18-M (2)	162,2	0,209	193,7	0	100	0	0,9707	0,9426	94,2

Tabulka: 15. Velikost částic polymeru M-18-M

Název vzorku	Zeta potential [mV]	Mobility [μmcm/Vs]	Conductivity [mS/cm]	Zeta Merit
1%lecitin,10%terb,M-18-M 1% (1)	-52,22	-4,117	0,09152	0,0007623
1%lecit+10%terb M-18-M 1%(2)	-47,88	-3,775	0,07577	0,0007589
0,75%lecit+0,25%PS,10%terb M-18-M 1%(1)	-51,1	-4,029	0,07383	0,0009081
0,75%lecit+0,25PS+10%terb+M18 1% (2)	-47,05	-3,71	0,06343	0,0003558
10%Terb,1% M-18-M,0,75%Ls+0,25%PS (3)	-57,29	-4,517	0,07808	0,0005734
10%Terb,1% M-18-M,0,75%Ls+0,25%PS (4)	-58,94	-4,647	0,07057	0,0005156
20%terb+1%M-18-M+0,75%lecit+0,25%PS (1)	-59,3	-4,675	0,07442	0,0009626
20%terb+1%M-18-M+0,75%lecit+0,25%PS (2)	-55,03	-4,338	0,06931	0,001035
30%terb+1%M-18-M+0,75%lecit+0,25%PS (1)	-63,4	-4,999	0,07112	0,00143
30%terb+1%M-18-M+0,75%lecit+0,25%PS (2)	-67,54	-5,325	0,06392	0,0005471
0,25%lecit+0,006%PS +10%terb+1% M-18-M (1)	-59,39	-4,682	0,04496	0,001397
0,25%lecit+0,06%PS +10%terb+1%M-18-M (2)	-60,56	-4,774	0,03012	0,0003456
0,5%lecit+0,5%Px 6400+10%terb+1%M-18-M (1)	-60,76	-4,79	0,06298	0,001113
0,5%lecit+0,5%Px 6400+10%terb+1%M-18-M (2)	-59,59	-4,698	0,06017	0,0008402
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1% M-18-M (1)	-62,41	-4,921	0,06077	0,0005073
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1% M-18-M (2)	-61,84	-4,875	0,06191	0,0002372
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%M-18-M,bez terbin. (1)	-47,42	-3,738	0,09394	0,0003208
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%M-18-M,bez terbin. (2)	-45,14	-3,559	0,08708	0,0002549
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%M-18-M,bez terbin. (1)	-60,71	-4,787	0,08555	0,000261
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%M-18-M,bez terbin. (2)	-67,15	-5,294	0,0681	0,0006079
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% M-18-M (1)	-60,58	-4,776	0,06629	0,000267
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% M-18-M (2)	-62,78	-4,949	0,05788	0,001294

Tabulka: 16. Zeta potenciál částic polymeru M-18-M

Příloha B – naměřená data polymeru 3 D při teplotě 25°C

Název vzorku	Z-Ave. [nm]	PDI	Mean Intensity		Area Intensity		Intercept	Measured Intercept	Merit
			Peak 1	Peak 2	Peak 1	Peak 2			
1%lecit+10%terb 3D1%(1)	504,9	0,493	793,3	0	100	0	0,8422	0,7107	70,87
1%lecit+10%terb+3D 1%(2)	368,2	0,516	691,1	0	100	0	0,9037	0,8181	81,67
0,75%lecit+0,25%PS,10%terb 3D 1%(1)	140,1	0,194	165,3	0	100	0	0,9423	0,8879	88,74
0,75%lecit+0,25%PS+10%terb+ 3D1% (2)	208,6	0,372	247,5	1767	90	9	0,9263	0,8585	85,68
10%Terb,1% 3D,0,75%Ls+0,25%PS (3)	154,4	0,258	217,8	35,57	96	3	0,9484	0,8998	89,93
10%Terb,1% 3D,0,75%Ls+0,25%PS (4)	153,5	0,255	212,9	24,4	98	1	0,9642	0,9299	92,96
20%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (1)	143,3	0,232	192	27,37	98	1	0,9569	0,9159	91,53
20%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (2)	220,5	0,419	428,4	0	99	0	0,8702	0,758	75,71
20%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (3)	229,8	0,399	312,3	1897	90	9	0,9007	0,8121	81,12
30%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (1)	158,3	0,254	201,6	0	100	0	0,9584	0,9192	91,84
30%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (2)	179	0,351	319	0	100	0	0,936	0,8769	87,62
30%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (3)	169,5	0,235	226,9	0	99	0	0,9652	0,9323	93,16
0,25%lecit+0,06%PS+10%terb+1%3D (1)	171,9	0,267	258,3	0	100	0	0,9565	0,9152	91,48
0,25%lecit+0,06%PS+10%terb+1%3D (2)	226,2	0,444	509,6	29,55	98	1	0,905	0,8201	81,94
0,5%lecit+0,5%Pluronic 6400+10%+1% 3D (1)	212,2	0,361	314,4	0	100	0	0,9523	0,9072	90,64
0,5%lecit+0,5%Pluronic 6400+10%+1% 3D (2)	243,3	0,389	299,5	0	100	0	0,9368	0,8802	87,49
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1% 3D (1)	132	0,277	167,7	26,08	97	2	0,9515	0,9057	90,52
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1% 3D (2)	138,6	0,338	179,8	30,05	97	2	0,9683	0,942	93,4
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%3D,bez terbin. (1)	164,6	0,344	213,6	28,55	96	3	0,9694	0,9422	93,8
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%3D,bez terbin. (2)	147,5	0,284	224,8	0	100	0	0,959	0,9209	91,88
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%3D,bez terbin. (1)	157,5	0,267	170,3	0	100	0	0,9539	0,9115	90,89
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%3D,bez terbin. (2)	139,8	0,208	171,3	0	100	0	0,9721	0,9449	94,4
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% 3D (1)	151,3	0,233	194,2	0	100	0	0,9725	0,9458	94,5
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% 3D (2)	156,5	0,211	193	0	100	0	0,9698	0,9415	94,03

Tabulka: 17. Velikost částic polymeru 3D

Název vzorku	Zeta potential [mV]	Mobility [μmcm/Vs]	Conductivity [mS/cm]	Zeta Merit
1%lecit+10%terb 3D1%(1)	-50,64	-3,992	0,07696	0,0007888
1%lecit+10%terb+3D1% (2)	-50,13	-3,952	0,08929	0,0009901
0,75%lecit+0,25%PS,10%terb 3D 1%(1)	-27,7	-2,184	0,06415	0,0003317
0,75%lecit+0,25PS+10%terb+3D1% (2)	-27,94	-2,203	0,039	0,0003467
10%Terb,1% 3D,0,75%Ls+0,25%PS (3)	-58,08	-4,579	0,08482	0,0004217
10%Terb,1% 3D,0,75%Ls+0,25%PS (4)	-66,68	-5,257	0,07224	0,001366
20%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (1)	-57,76	-4,554	0,0767	0,0003183
20%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (2)	-54,76	-4,318	0,06278	0,0009331
20%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (3)	-67,89	-5,353	0,09951	0,0006474
30%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (1)	-61,72	-4,866	0,07722	0,0002895
30%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (2)	-57,65	-4,546	0,06663	0,0005138
30%terb+1%3D+0,75%lecit+0,25%PS (3)	-33,75	-2,661	0,03243	0,0004202
0,25%lecit+0,06%PS +10%terb+1% 3D (1)	-56,88	-4,484	0,02764	0,001045
0,25%lecit+0,06%PS +10%terb+1%3D (2)	-66,43	-5,238	0,03227	0,000815
0,5%lecit+0,5%Pluronic 6400+10%terb+1%3D (1)	-71,24	-5,617	0,3555	0,0003093
0,5%lecit+0,5%Pluronic 6400+10%terb+1%3D (2)	-68,95	-5,436	0,3295	0,0008378
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1% 3D (1)	-66,93	-5,277	0,1212	0,0002849
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1% 3D (2)	-67,68	-5,336	0,09989	0,0008343
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%3D,bez terbin. (1)	-50,4	-3,974	0,06501	0,0009466
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%3D,bez terbin. (2)	-48,25	-3,804	0,08604	0,00122
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%3D,bez terbin. (1)	-60,31	-4,755	0,06261	0,000404
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%3D,bez terbin. (2)	-63,9	-5,038	0,0693	0,0007063
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% 3D (1)	-50,3	-3,965	0,06163	0,0002103
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% 3D (2)	-56,55	-4,459	0,06563	0,0006179

Tabulka: 18. Zeta potenciál částic polymeru 3D

Příloha C – naměřená data polymeru 3 M při teplotě 25°C

Název vzorku	Z-Ave. [nm]	PDI	Mean Intensity		Area Intensity		Intercept	Measured Intercept	Merit
			Peak 1	Peak 2	Peak 1	Peak 2			
1%lecit.,10%terb, 3M 1% (1)	252,1	0,287	409,6	0	100	0	0,9647	0,931	93,02
1%lecit+10%terb 3M 1%(2)	303	0,385	474,4	0	100	0	0,9522	0,9073	90,6
0,75%lecit+0,25%PS,10%terb 3M 1%(1)	152,9	0,197	196,6	0	100	0	0,9464	0,8958	89,54
0,75%lecit+0,25%PS+10%terb+ 3M1% (2)	152,8	0,188	191,4	37,38	98	1	0,9496	0,9022	90,14
10%Terb,1% 3M,0,75%Ls+0,25%PS (1)	154	0,241	195	31,85	97	2	0,9539	0,9101	90,96
10%Terb,1% 3M,0,75%Ls+0,25%PS (2)	244,4	0,421	371,2	2371	98	1	0,857	0,7348	73,38
10%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (3)	167,9	0,256	198,9	0	100	0	0,9495	0,9023	90,1
20%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (1)	210,7	0,427	475,6	0	100	0	0,9117	0,8319	83,09
20%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (2)	141,8	0,222	188	24,89	98	1	0,9615	0,9248	92,45
20%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (3)	176,3	0,302	185,1	1857	91	8	0,9354	0,8755	87,44
30%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (1)	170,9	0,357	254,6	0	100	0	0,9361	0,8767	87,61
30%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (2)	156,6	0,235	213,1	27,79	98	1	0,9465	0,8964	89,55
0,25%lecit+0,06%PS+10%terb+1%3M (1)	245,9	0,446	507,7	0	100	0	0,9238	0,8543	85,27
0,25%lecit+0,06%PS+10%terb+1%3M (2)	147,7	0,242	199,2	0	100	0	0,966	0,9328	93,23
0,5%lecit+0,5%Pluronic 6400+10%+1% 3M (1)	333,5	0,477	620,5	79,91	90	9	0,8754	0,767	76,56
0,5%lecit+0,5%Pluronic 6400+10%+1% 3M (2)	212,2	0,345	247,8	51,92	94	5	0,9531	0,91	90,77
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1% 3M (1)	137,7	0,345	148,3	0	100	0	0,9608	0,9273	91,93
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1% 3M (2)	135,5	0,265	168,8	31,47	95	4	0,9662	0,9339	93,31
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%3M,bez terbin. (1)	162	0,285	218,1	0	100	0	0,9538	0,9106	90,93
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%3M,bez terbin. (2)	161,3	0,276	189,1	0	100	0	0,9564	0,9166	91,34
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%3M,bez terbin. (1)	193,1	0,337	262,1	0	100	0	0,9374	0,8794	87,79
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%3M,bez terbin. (2)	150,8	0,244	176,5	0	100	0	0,9497	0,9041	90,08
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% 3M (1)	153,1	0,216	201,6	0	100	0	0,9711	0,9435	94,29
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% 3M (2)	156,4	0,192	187,6	0	100	0	0,9649	0,9313	93,06

Tabulka: 19. Velikost částic polymeru 3M

Název vzorku	Zeta potential [mV]	Mobility [μmcm/Vs]	Conductivity [mS/cm]	Zeta Merit
1%lecit+10%terb 3M1%(1)	-51,72	-4,078	0,06423	0,0007101
1%lecit+10%terb+3M1% (2)	-49,78	-3,925	0,07638	0,0004762
0,75%lecit+0,25%PS,10%terb 3M 1%(1)	-42,97	-3,388	0,06883	0,0009599
0,75%lecit+0,25PS+10%terb+M3 1% (2)	-51,18	-4,035	0,08995	0,0003119
10%Terb,1% 3M,0,75%Ls+0,25%PS (1)	-63,41	-5	0,06704	0,0003028
10%Terb,1% 3M,0,75%Ls+0,25%PS (2)	-64,83	-5,111	0,06449	0,0002927
10%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (3)	-62,41	-4,921	0,1121	0,0009184
20%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (1)	-57,73	-4,551	0,06722	0,0009178
20%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (2)	-59,96	-4,727	0,06893	0,0005076
20%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (3)	-70,71	-5,575	0,09919	0,0008869
30%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (1)	-63,33	-4,993	0,08444	0,0005293
30%terb+1%3M+0,75%lecit+0,25%PS (2)	-58,95	-4,648	0,07456	0,0004583
0,25%lecit+0,006%PS +10%terb+1% 3M (1)	-51,59	-4,067	0,04083	0,0004198
0,25%lecit+0,06%PS +10%terb+1%3M (2)	-57,62	-4,543	0,03243	0,0006708
0,5%lecit+0,5%Pluronic 6400+10%terb+1%3M (1)	-56,18	-4,429	0,06338	0,0004295
0,5%lecit+0,5%Pluronic 6400+10%terb+1%3M (2)	-62,34	-4,915	0,05954	0,000478
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1% 3M (1)	-59,15	-4,664	0,056	0,000484
0,5%lec+0,5%Px6800+10%terb+1% 3M (2)	-58,39	-4,604	0,07042	0,0003374
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%3M,bez terbin. (1)	-50,8	-4,005	0,0814	0,0005632
0,5%PX407+0,5%Lecit.,2%3M,bez terbin. (2)	-50,38	-3,972	0,07963	0,0005006
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%3M,bez terbin. (1)	-64,78	-5,108	0,06882	0,0005606
0,5%PS+0,5%Lecit.,2%3M,bez terbin. (2)	-66,86	-5,271	0,05155	0,0006387
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% 3M (1)	-54,87	-4,326	0,06743	0,0009216
0,5%PS+0,5%lec+10% terb HCl +1% 3M (2)	-59,53	-4,693	0,07088	0,0006016

Tabulka: 20. Zeta potenciál částic polymeru 3M

Příloha D – naměřená data polymeru PDLLA při teplotě 25°C

Název vzorku	Z-Ave. [nm]	PDI	Mean Intensity		Area Intensity		Intercept	Measured Intercept	Merit
			Peak 1	Peak 2	Peak 1	Peak 2			
10%terb+1%PDLLA+0,75%lecit+0,25%PS	165,6	0,231	199	0	99	0	0,9546	0,9122	91,12
10%terb+1%PDLLA+0,75%lecit+0,25%PX6800	166,7	0,268	228	26,5	98	1	0,967	0,936	93,49
0,5%PX407+0,5%Lec.2%PDLLA bez terb	204,2	0,407	354	2494	98	1	0,9546	0,9111	91
0,5%PX407+0,5%Lecitin,2%PDLLA bez terb (2)	174,4	0,27	257,1	0	100	0	0,9661	0,9338	93,31
0,5%PS+0,5%Lec.2%PDLLA bez terb	156,7	0,217	186,5	0	100	0	0,9708	0,9433	94,16
0,5%PS+0,5%Lecitin,2%PDLLA bez terb (2)	153,2	0,192	191,2	0	100	0	0,9671	0,9358	93,49
0,5%PS,0,5%Lecitin,1%PDLLA+10%Terb HCl	147,7	0,226	197,3	0	100	0	0,9524	0,9075	90,66
0,5%PS+0,5%Lecitin,1%PDLLA+10% terb HCl (2)	150,1	0,198	189,8	0	100	0	0,9451	0,8941	89,26
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+10%terb HCl (3)	137,1	0,218	171,1	0	100	0	0,9612	0,925	92,31
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+10%terb HCl	138,9	0,218	175,3	0	100	0	0,9464	0,8962	89,54
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+20%terb HCl	134,3	0,201	170,8	0	99	0	0,9658	0,9331	93,26
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+30%terb HCl	135,6	0,193	170,5	0	100	0	0,9689	0,9396	93,9
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+10%terb baze	133,2	0,197	167,4	0	100	0	0,9714	0,9437	94,31
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+10%terb baze	132,4	0,191	166,8	0	100	0	0,9528	0,9084	90,71
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+20%terb baze	138,8	0,203	177,6	0	100	0	0,9654	0,9327	93,16
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+30%terb baze	135,1	0,213	176,1	0	100	0	0,9634	0,9291	92,81
1,5%lecit+1%PDLLA bez terb (1)	193,9	0,35	293,4	0	99	0	0,948	0,8994	89,85
1,5%lecit+1%PDLLA bez terb (2)	345,2	0,513	256,8	1348	49	47	0,8666	0,7513	75,02
1%lecit+1%PDLLA +bez terb (1)	196,4	0,398	417,9	0	100	0	0,9436	0,8915	89,07
1%lecit+1%PDLLA bez terb (2)	235	0,363	347	0	100	0	0,963	0,9279	92,69
0,75%lecit+0,25%PS,1%PDLLA +bez terb (1)	140,6	0,234	186,5	26,95	98	1	0,9684	0,938	93,74
0,75%lecit+0,25%PS+1%PDLLA bez terb (2)	153,4	0,209	200,4	0	100	0	0,965	0,9319	93,13
0,5%lecit+0,5%PS+1%PDLLA +bez terb (1)	135,8	0,227	169,5	0	100	0	0,946	0,8956	89,46
0,5%lecit+0,5%PS+1%PDLLA bez terb (2)	129	0,199	161	0	99	0	0,9563	0,9148	91,43
0,5%Lecit+0,5%PS 1%PDLLA,bez terb.	122,6	0,207	157,2	0	100	0	0,9596	0,9212	92,05
0,25%lecit+0,75%PS+1%PDLLA +bez terb (1)	142,2	0,391	180,5	2103	95	4	0,9165	0,8406	83,94
0,25%lecit+0,75%PS+1%PDLLA bez terb (2)	97,18	0,266	122,3	0	100	0	0,9624	0,9275	92,66
0,5%lecit+0,5%PX407+1%PDLLA +10% terb (1)	141,3	0,265	181,6	0	100	0	0,951	0,9052	90,43
0,5%lecit+0,5%PX407+1%PDLLA 10% terb (2)	225	0,452	536,4	143,1	60	39	0,8629	0,7449	74,43
0,5%Lecit.+0,5%PX407+1%PDLLA+10%terb	136,3	0,264	185,4	0	100	0	0,9591	0,9201	91,97
0,75%lecitin+0,25%PS + 20%terb	172	0,23	210,1	39,24	98	1	0,9675	0,9369	93,58
0,75%lecitin+0,25%PS+30%terb	155,7	0,188	194,7	0	100	0	0,9505	0,9038	90,34
0,5%lecit+0,5%PX6400,30%terb	166,4	0,211	210	0	99	0	0,963	0,928	92,75

Tabulka: 21. Velikost částic polymeru PDLLA

Název vzorku	Zeta potential [mV]	Mobility [μmcm/Vs]	Conductivity [mS/cm]	Zeta Merit
10%terb+1%3PDLL+0,75%lecit+0,25%PS	-57,16	-4,507	0,04164	0,0009144
10%terb+1%PDLL+0,75%lecit+0,25%PX6800	-30,51	-2,406	0,04517	0,001102
0,5%PX407+0,5%Lec.2%PDLLA bez terb	-42,88	-3,381	0,07823	0,0004656
0,5%PX407,0,5%Lecitin,2%PDLLA bez terb (2)	-48,12	-3,794	0,08616	0,0006175
0,5%PS+0,5%Lec.2%PDLLA bez terb	-60,88	-4,8	0,06724	0,0004963
0,5%PS+0,5%Lecitin,2%PDLLA bez terb (2)	-56,72	-4,472	0,08922	0,0004497
0,5%PS,0,5%Lecitin,1%PDLLA+10%Terb HCl	-54,57	-4,302	0,0756	0,0005113
0,5%PS+0,5%Lecitin,1%PDLLA +10% terb HCl (2)	-62,06	-4,893	0,07003	0,0003502
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+10%terb HCl (3)	-59,73	-4,709	0,06411	0,0003187
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+10%terb HCl	-66,75	-5,262	0,07199	0,001481
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+20%terb HCl	-60,18	-4,745	0,07972	0,000376
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+30%terb HCl	-57,18	-4,508	0,07869	0,0005159
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+10%terb baze	-64,8	-5,109	0,08059	0,0006359
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+10%terb baze	-61,53	-4,851	0,0869	0,00126
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+20%terb baze	-66,33	-5,229	0,08013	0,0015
0,5% PS+0,5% Lec+ 1%PDLLA+30%terb baze	-59,64	-4,702	0,08131	0,0005615
1,5%lecit+1%PDLLA bez terb (1)	-48,44	-3,819	0,09	0,000593
1,5%lecit+1%PDLLA +bez terb (2)	-63,39	-4,997	0,1755	0,0007896
1%lecit+1%PDLLA bez terb (1)	-51,02	-4,022	0,06824	0,0006776
1%lecit+1%PDLLA +bez terb (2)	-66,49	-5,242	0,1183	0,000718
0,75%lecit+0,25%PS+1%PDLLA bez terb (1)	-57,26	-4,514	0,08972	0,0003164
0,75%lecit+0,25%PS+1%PDLLA +bez terb (2)	-60,69	-4,785	0,1042	0,000322
0,5%lecit+0,5%PS+1%PDLLA bez terb (1)	-50,43	-3,976	0,05485	0,000583
0,5%lecit+0,5%PS+1%PDLLA +bez terb (2)	-60,19	-4,745	0,06828	0,0004547
0,5%Lecit+0,5%PS 1%PDLLA,bez terb.	-66,46	-5,239	0,1882	0,0003248
0,25%lecit+0,75%PS+1%PDLLA bez terb (1)	-40,45	-3,189	0,02394	0,0009906
0,25%lecit+0,75%PS+1%PDLLA +bez terb (2)	-55,88	-4,406	0,04154	0,0008512
0,5%lecit+0,5%PX407+1%PDLLA +10% terb (1)	-35,97	-2,836	0,0613	0,0002967
0,5%lecit+0,5%PX407+1%PDLLA +10% terb (2)	-46,08	-3,633	0,06988	0,0006905
0,5%Lecit+0,5%PX407+1%PDLLA+10% terb.	-38,22	-3,013	0,1903	0,0003589
75%lecitin+25%PS+20%terb	-63,49	-5,006	0,1175	0,0006479
0,75%lecitin+0,25%PS+30%terb	-49,45	-3,899	0,1178	0,0009308
0,5%lecitin+0,5%PX6400+30%terb	-62,99	-4,966	0,07	0,0002794

Tabulka: 22. Zeta potenciál částic polymeru PDLLA

Příloha E – seznam obrázků

Obr. 1. Současné aplikace nanotechnologie a předpokládaný vývoj	16
Obr. 2. Přístroj pro odstředivou extruzi	18
Obr. 3. Příprava tobolek jednoduchou koacervací	19
Obr. 4. Schéma Sternova modelu uspořádání elektrické dvojvrstvy	20
Obr. 5. Elektroforéza.....	22
Obr. 6. Dynamický rozptyl světla (DLS)	23
Obr. 7. Laser Doppler Velocimetry.....	24

Příloha F – seznam tabulek

Tabulka: 1. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru M-18-M.....	29
Tabulka: 2. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru M-18-M	30
Tabulka: 3. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru 3D.....	31
Tabulka: 4. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru 3D	32
Tabulka: 5. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru 3M	33
Tabulka: 6. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru 3M....	34
Tabulka: 7. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru PDLLA.....	35
Tabulka: 8. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru PDLLA	35
Tabulka: 9. Vliv typu použitého tenzidu na velikost částic	38
Tabulka: 10. Vliv typu použitého tenzidu na zeta potenciál.....	39
Tabulka: 11. Vliv koncentrace terbinafinu na velikost částic	40
Tabulka: 12. Vliv koncentrace terbinafinu na zeta potenciál.....	41
Tabulka: 13. Vliv koncentrace PS na velikost částic	42
Tabulka: 14. Vliv koncentrace PS na zeta potenciál.....	43
Tabulka: 15. Velikost částic polymeru M-18-M.....	52
Tabulka: 16. Zeta potenciál částic polymeru M-18-M.....	53
Tabulka: 17. Velikost částic polymeru 3D.....	54
Tabulka: 18. Zeta potenciál částic polymeru 3D	55
Tabulka: 19. Velikost částic polymeru 3M	56
Tabulka: 20. Zeta potenciál částic polymeru 3M.....	57
Tabulka: 21. Velikost částic polymeru PDLLA.....	58
Tabulka: 22. Zeta potenciál částic polymeru PDLLA	59

Příloha G – seznam grafů

Graf: 1. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru M-18-M.....	29
Graf: 2. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru M-18-M.	30
Graf: 3. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru 3D.....	31
Graf: 4. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru 3D	32
Graf: 5. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru 3M.....	33
Graf: 6. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru 3M	34
Graf: 7. Vliv složení emulze na velikost částic polymeru PDLLA.....	36
Graf: 8. Vliv složení emulze na hodnotu zeta potenciálu částic polymeru PDLLA ..	37
Graf: 9. Vliv typu použitého tenzidu na velikost částic	38
Graf: 10. Vliv typu použitého tenzidu na zeta potenciál.....	39
Graf: 11. Vliv koncentrace terbinafinu na velikost částic.....	40
Graf: 12. Vliv koncentrace terbinafinu na zeta potenciál	41
Graf: 13. Vliv koncentrace PS na velikost částic	42
Graf: 14. Vliv koncentrace PS na zeta potenciál.....	43

Literatura

- [1] *Chalabala, M.*: Technologie léků, Galén, 2001, 225 – 231
- [2] *Lázníčková, A., Ďoubal, S., Gasparič, J., Dittrich, M.*: Fyzikální chemie pro posluchače farmacie 2. díl, Univerzita Karlova v Praze, Karolinum, 2000
- [3] *Prnka, T., Šperlink, K.* [online]: Nanotechnologie, <http://www.nanotechnologie.cz/view.php?cisloclanku=2006103003>
- [4] *Prnka, T., Šperlink, K.* [online]: Bionanotechnologie, nanobiotechnologie, nanomedicína, <http://www.nanotechnologie.cz/view.php?cisloclanku=2006103005/>
- [5] *Panáček, A., Kvítek, L.* [online]: Koloidní chemie – multimediální učební text, <http://fch.upol.cz/skripta/kol/properties.pdf>
- [6] [online]: National Nanotechnology initiative, 2004, <http://www.nano.gov/>
- [7] [online]: The Nanotechnology Study, The Royal Society, 2003, <http://www.nanotec.org.uk/>
- [8] *Soppimath, K. S., Aminabhavi, T. M., Kulkarni, A. R., Rudzinski, W. E.*, [online]: Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices, Journal of Controlled Release 70, 2001, <http://www.elsevier.com/locate/jconrel>
- [9] *Song, C. X. a kol.*, [online]: Formulation and characterization of biodegradable nanoparticles for intravascular local drug delivery, Journal of Controlled Release 43, 1997, <http://www.elsevier.com/locate/jconrel>
- [10] [online]: Malvern – Innovative Solutions in Material Charakterization, http://www.malvern.co.uk/LabEng/industry/nanotechnology/nanoparticle_definition.htm
- [11] [online]: Malvern – Innovative Solutions in Material Charakterization, http://www.malvern.co.uk/LabEng/industry/nanotechnology/nanotechnology_definition.htm
- [12] [online]: Malvern – Innovative Solutions in Material Charakterization, http://www.malvern.co.uk/LabEng/industry/nanotechnology/nanoparticle_manufacturing.htm
- [13] [uživatelská příručka]: Zetasizer Nano Series User Manual, Malvern Instruments Ltd., 2003, str. 13.1 – 13.8, str. 14.1 – 14.6, str. 15.1 – 15.12